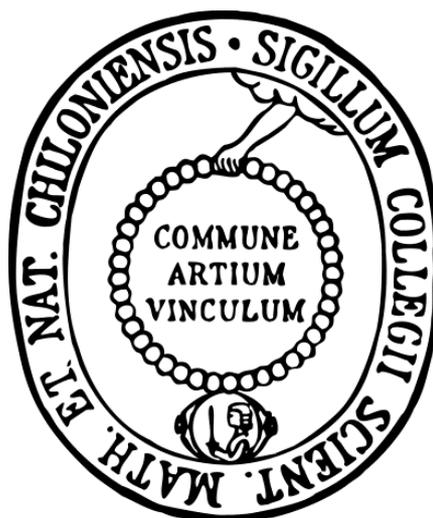


**Synthese und Reaktivitätsstudien an
niedermolekularen Modellkomplexen für die
Darstellung kupferkatalysierter Enzymreaktionen**



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

vorgelegt von

Franziska Wendt

Institut für Anorganische Chemie

Kiel 2016

Referent: Prof. Dr. Felix Tuzek

Koreferent: Prof. Dr. Christian Näther

Tag der mündlichen Prüfung: 29.11.2016

Zum Druck genehmigt: 07.12.2016

gez. Prof. Dr. Natascha Oppelt, Dekanin

Die vorliegende Dissertation wurde unter Anleitung von

Prof. Dr. Felix Tuczek

in der Zeit von

März 2012 bis September 2016

am Institut für Anorganische Chemie

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

angefertigt.

Für meine Familie

„Inmitten der Schwierigkeit

liegt die Möglichkeit.“

(Albert Einstein)

Kurzdarstellung

Die Katalyse ist von überragender Bedeutung für die chemische Industrie. Ein besonderes Augenmerk wurde in den letzten Jahren auf die Verwendung von Biokatalysatoren gelegt. Ihre Vorteile bestehen in milden Reaktionsbedingungen, hohen Umsatzraten und v. a. in einer hohen Substrat- und Stereoselektivität. Dadurch ist es möglich, enantiomerenreine Produkte darzustellen, wie sie u. a. in der pharmazeutischen- oder in der Lebensmittelindustrie benötigt werden. Da es nicht immer gelingt, die Enzyme aus der Natur kostengünstig und in ausreichender Menge der chemischen Industrie zur Verfügung zu stellen, besteht von Seiten der bioanorganischen Chemie großes Interesse daran, Modellsysteme zu entwickeln, welche die Funktionen nativer Enzyme nachahmen. Hierbei besteht das Ziel in der Synthese von niedermolekularen Katalysatoren, die unter moderaten Bedingungen eine hohe ökonomische und ökologische Effizienz aufweisen und gleichzeitig in der Lage sind, ein großes Substratspektrum mit hoher Stereoselektivität umzusetzen. Motiviert durch die Mannigfaltigkeit kupferkatalysierter Enzymreaktionen, wird im ersten Abschnitt dieser Arbeit ein Modellsystem der Galactose Oxidase hinsichtlich der Oxidations-Reaktion von Ethanol zu Acetaldehyd untersucht. Hierbei konnte der Phenoxyradikal-Komplex, die wichtigste reaktive Zwischenstufe des Katalysezyklus, auf unterschiedliche Weise in Lösung generiert und charakterisiert werden. Anhand von DFT-Rechnungen gelang es, eine mögliche Ursache für die geringe katalytische Effizienz zu erhalten. Der zweite Teil dieser Arbeit konzentriert sich auf die Synthese und Untersuchung von fünf bidentaten Imidazol-basierten Modellsystemen für die Catechol Oxidase- und Tyrosinase-Reaktion. Zunächst werden die Catechol Oxidase-Aktivitäten der synthetisierten Modellsysteme unter Berücksichtigung der sterischen und elektronischen Einflüsse untersucht. Insbesondere die kinetischen Untersuchungen der Reaktion und die damit verbundene Detektion und Charakterisierung von Zwischenstufen erlauben erste Aussagen über den Mechanismus. Im Anschluss wird die weitaus komplexere Reaktionsfolge der Tyrosinase untersucht. Der Einsatz von unterschiedlichen niedermolekularen Katalysatoren und einer Vielfalt an monophenolischen Substraten liefert erste Hinweise für die notwendigen Eigenschaften des Ligandensystems. Die Detektion charakteristischer Intermediate während der Katalyse zeigt weitere Unterschiede der eingesetzten Kupfer(I)-Katalysatoren auf, was ein besseres Verständnis für die Entwicklung bzw. Verbesserung von Tyrosinase-Modellsystemen erlaubt. Die empirisch gewonnenen Daten werden hierbei durch DFT-Rechnungen begleitet.

Abstract

Catalysis is of prime importance for the chemical industry. Therefore, special attention is directed towards using biocatalysts. Their advantages range from mild reaction conditions, high conversion rates up to high substrate- and stereoselectivities, whereby it is possible to synthesize enantiopure products required, for example, in pharmaceutical or food industry. Due to frequently ineffective methods to economically provide native enzymes in a large scale for the chemical industry, the fascinating but challenging mission of bioinorganic chemistry is to develop model systems that mimic the function of these native enzymes. This task involves synthesis of low molecular weight catalysts which simultaneously exhibit high economic and ecological efficiency, work under moderate conditions and are capable to convert a wide variety of substrates with high stereoselectivity.

Due to the diversity of copper-catalyzed enzymatic reactions, the first part of this thesis deals with a model system of galactose oxidase catalytically mediating the reaction of ethanol to acetaldehyde. In this context the phenoxyl radical, which represents the most important reactive intermediate in the catalytic cycle, could be generated and investigated in solution in different ways. Using DFT calculations, it was possible to obtain a reason for the low catalytic efficiency.

The second part of this work focuses on the synthesis and characterization of five bidentate imidazole-based model systems mimicking the copper enzymes catechol oxidase and tyrosinase. Initially, the catechol oxidase activity of the synthesized model systems was investigated whereby steric and electronic effects were taken into account. In particular, kinetic studies of the reaction and the associated detection and characterization of intermediates allowed determination of the mechanism. Afterwards, the more complicated tyrosinase reactivity was examined. Applying different low molecular weight copper(I) catalysts to a broad range of monophenols as employed substrates provided indications for the required properties of the ligand systems. The detection of characteristic intermediates during the catalysis revealed further differences of the developed copper catalysts, leading to a more detailed understanding of tyrosinase model systems. These empirical data were analyzed with the help of DFT calculations.

Inhaltsverzeichnis

1	Die Bedeutung von Kupfer in biologischen Systemen	1
2	Aktueller Kenntnisstand der Galactose Oxidase	6
2.1	Das Enzym Galactose Oxidase	6
2.2	Mechanistischer Zyklus der Galactose Oxidase	9
2.3	Ausgewählte Modellsysteme der Galactose Oxidase.....	10
3	Ziele dieser Arbeit Teil I.....	19
4	Ergebnisse und Diskussion bezüglich eines Modellsystems der Galactose Oxidase.....	21
4.1	Syntheseweg zur Darstellung von <i>N</i> -(2-Hydroxyphenyl)-methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (L6-H, 7) und [Cu(I)L6]PF ₆ (8)	21
4.2	Katalytische Galactose Oxidase-Reaktion von [Cu(I)L6]PF ₆	23
4.3	Erzeugung eines Phenoxyradikalkomplexes.....	30
4.4	DFT-Rechnungen von Cu(I)(L6)	38
5	Zusammenfassung der Ergebnisse aus Teil I.....	43
6	Kupfer Typ 3 Enzyme: Struktur, Reaktivität und Modellsysteme.....	46
6.1	Hämocyanin	46
6.2	Die Polyphenoloxidasen Tyrosinase und Catechol Oxidase.....	48
6.2.1	Melaninbiosynthese	49
6.2.2	Mechanismus der Mono- und Diphenolase-Aktivität.....	52
6.2.3	Strukturelle Unterschiede von Tyrosinase und Catechol Oxidase	53
6.3	Modellsysteme der Tyrosinase und Catechol Oxidase im Überblick	58
6.3.1	Modellsysteme der Catechol Oxidase.....	58
6.3.2	Modellsysteme der Tyrosinase	61
7	Ziele dieser Arbeit Teil II.....	69
8	Synthesestrategien Imidazol-basierter Modellsysteme	73
8.1	Syntheseübersichten neuer bidentater Liganden und der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe als Modellsysteme für die Catechol Oxidase- und Tyrosinase-Reaktion....	73

8.1.1	Synthesestrategien der Oxazolin-basierten Liganden L _{OL} 1-4 (14, 25, 27, 29) und der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe (32-34).....	73
8.1.2	Synthesestrategie zur Darstellung Imidazol/Imin-basierter Modellsysteme und der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe	81
8.1.3	Synthesestrategie zur Darstellung von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (78) und des korrespondierenden Kupfer(I)-Komplexes (79)	95
9	Mechanistische Studien der Catechol Oxidase-Reaktion.....	97
9.1	Kupfer(I)-Komplex vermittelte Oxidations-Reaktionen von 3,5-Di- <i>tert</i> -butylcatechol.....	98
9.2	Nachweis von Wasserstoffperoxid während der Catechol Oxidase-Reaktion	105
9.3	Katalase-Aktivität.....	106
9.4	Kinetische Studien der Kupfer(I)-Modellkomplexe.....	109
9.5	Stöchiometrische Oxidations-Reaktion und mechanistische Studien anhand von CuL _{OL} 1	118
10	Mechanistische Studien der Tyrosinase-Reaktion.....	131
10.1	Katalytische Oxygenierungen.....	131
10.1.1	Katalytische Oxygenierung von 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol.....	132
10.1.2	Katalytische Oxygenierung weiterer Substrate	143
10.2	Stöchiometrische Oxygenierung von 2,4-Di- <i>tert</i> -butyl-phenol.....	173
10.3	Tieftemperaturoxygenierung der Kupfer(I)-Modellkomplexe	178
10.4	Reversibilitätsmessungen der $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Einheit}$	187
10.5	Katalytische Oxygenierung von 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol mittels CuBIMZ bei tiefen Temperaturen.....	195
10.6	Desaktivierung der Tyrosinase-Reaktion	198
10.7	DFT-Rechnungen	207
10.7.1	Geometrie-Optimierung der Kupfer(I)-Komplexe.....	207
10.7.2	DFT-Rechnungen zur Aufklärung mechanistischer Unterschiede während der Tyrosinase-Reaktion.....	211
11	Zusammenfassung der Ergebnisse aus Teil II	216
11.1	Catechol Oxidase-Reaktivität.....	217
11.2	Tyrosinase-Reaktion.....	219
11.2.1	Oxygenierungs-Reaktionen.....	219

11.2.2	Mechanistische Studien der Tyrosinase	221
11.2.3	Schlussfolgerung und Ausblick	223
12	Durchgeführte Synthesen	226
12.1	Allgemeine Arbeitstechniken	226
12.2	Geräte und Methoden	227
12.2.1	Chromatographie	227
12.2.2	NMR-Spektroskopie	227
12.2.3	UV/Vis-Spektroskopie	228
12.2.4	Fluoreszenzspektroskopie	228
12.2.5	Schwingungsspektroskopie	228
12.2.6	Elementaranalytik	228
12.2.7	Massenspektrometrie	229
12.2.8	Röntgenpulverdiffraktometrie	229
12.2.9	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)	229
12.2.10	Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	230
12.3	Synthesen zur Darstellung eines Modellsystems der Galactose Oxidase	231
12.3.1	Synthese von Bis-(2-pyridylmethyl)amin (3)	231
12.3.2	Synthese von <i>N</i> -(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)-amin (L6-H, 7)	233
12.3.3	Synthese von [Cu(I)L6]PF ₆ (8)	235
12.3.4	Synthese von [Cu ₂ (L6) ₂](PF ₆) ₂ (80)	236
12.3.5	Synthese von [Cu(II)(L6)(CH ₃ CN)](PF ₆) ₂ (81)	237
12.4	Synthese und Syntheseversuche von Modellsystemen basierend auf einer Kombination aus Imin- und Oxazolin-Funktion	239
12.4.1	Synthese von Methyl-2-benzamido-3-(1 <i>H</i> -imidazol-4-yl)-propionat (11)	239
12.4.2	Synthese von <i>N</i> -(1-Hydroxy-3-(1 <i>H</i> -imidazol-4-yl)propan-2-yl)-benzamid (12)	241
12.4.3	Syntheseversuch von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (14)	242
12.4.4	Synthese von 2-(<i>R</i>)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenyl-methyl)-imidazol-4(5)-yl]propanol (16)	243
12.4.5	Synthese von 2-(<i>R</i>)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenyl-methyl)-imidazol-4(5)-yl]propanol (17)	244
12.4.6	Synthese von 2-(<i>R</i>)-Amino-3-(1 <i>H</i> -imidazol-4(5)-yl)propanol- dihydrochlorid (18)	246
12.4.7	Syntheseversuch von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (14)	247
12.4.8	Syntheseversuch von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (14)	248
12.4.9	Syntheseversuch von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (14)	249
12.4.10	Syntheseversuch von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (L _{OL1} , 14)	250
12.4.11	Synthese von [Cu(I)(L _{OL1})(CH ₃ CN)]PF ₆ (CuL _{OL1} , 32)	252
12.4.12	Synthese von [Cu(II)(L _{OL1}) ₂](PF ₆) ₂ (82)	253

12.4.13	Synthese von <i>tert</i> -Butylimidsäureethylester-hydrochlorid (24).....	254
12.4.14	Synthese von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-(<i>tert</i> -butyl)-4,5-dihydrooxazol (L _{OL2} , 25)	255
12.4.15	Synthese von [Cu(I)(L _{OL2})(CH ₃ CN)]PF ₆ (CuL _{OL2} , 33).....	257
12.4.16	Syntheseversuch 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-4,5-dihydrooxazol (L _{OL4} , 29)	258
12.4.17	Synthese von 4-((1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)methyl)-2-methyl-4,5-dihydrooxazol (L _{OL3} , 27)...	259
12.4.18	Synthese von [Cu(I)(L _{OL3})(CH ₃ CN)]PF ₆ (CuL _{OL2} , 34).....	260
12.5	Synthese und Syntheseversuche Imidazol-basierter Modellsysteme.....	262
12.5.1	Synthese von 1-Methyl-2-hydroxymethylimidazol (40)	262
12.5.2	Synthese von 2-Chloromethyl-1-methyl-1 <i>H</i> -imidazol-hydrochlorid (41)	263
12.5.3	Syntheseversuch von 2-(1-Methyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)-acetonitril (42)	264
12.5.4	Syntheseversuch von 2-(1-Methyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)-acetonitril (42)	265
12.5.5	Synthese von 1-Methyl-2-(hydroxyethyl)imidazol (44)	266
12.5.6	Synthese von 2-Chloroethyl-1-methyl-1 <i>H</i> -imidazol-hydrochlorid (50)	267
12.5.7	Syntheseversuch von 2-(2-(1-Methyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)ethyl)-isoindolin-1,3- dion (49)	268
12.5.8	Syntheseversuch von 2-(2-Bromoethyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -imidazol (45)	269
12.5.9	Syntheseversuch von <i>tert</i> -Butyl(2-(1-methyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)-ethyl)carbammat (83)...	269
12.5.10	Syntheseversuch von 2-(1-Ethyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)-ethylamin (60)	270
12.5.11	Synthese von <i>tert</i> -Butyl(2-(1-ethyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (64)	271
12.5.12	Synthese von 2-Amino-1-(1-ethyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)ethanon (66)	272
12.5.13	Syntheseversuch von 2-((2,2-Dimethylpropyliden)amino)-1-(1-ethyl-1 <i>H</i> -imidazol-2- yl)ethanon (67)	274
12.5.14	Syntheseversuch von <i>tert</i> -Butyl(2-(1-ethyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-yl)-ethyl)carbammat (65).....	275
12.5.15	Syntheseversuch von <i>N</i> -(2-(1-Ethyl-1 <i>H</i> -imidazol-4-yl)ethyl)-2,2,2- trifluoroacetimidat (71).....	277
12.5.16	Synthese von 2,2,2-Trifluoro- <i>N</i> -(2-(1-trityl-1 <i>H</i> -imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (72)	278
12.5.17	Synthese von 2-(1-Trityl-1 <i>H</i> -imidazol-4-yl)-ethylamin (73)	280
12.5.18	Synthese von <i>N</i> -(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1 <i>H</i> -imidazol-4-yl)ethanamin (L _{imz1} , 74)	281
12.5.19	Synthese von [Cu(I)(L _{imz1})(CH ₃ CN) ₂]PF ₆ (CuL _{imz1} , 75)	284
12.6	Synthese eines symmetrischen Modellsystems	286
12.6.1	Synthese von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methanon (77)	286
12.6.2	Synthese von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (BIMZ, 78)	287
12.6.3	Synthese von [Cu(I)(BIMZ)(CH ₃ CN)]PF ₆ (CuBIMZ, 79).....	288
12.7	Synthese eines Pyridin-basierten Tyrosinase-Modellsystems	290
12.7.1	Synthese von 2-[(<i>tert</i> -Butyl)iminoethylen](pyrid-2-in) (L _{py1} , 86).....	290
12.7.2	Synthese von [Cu(I)(L _{py1})(CH ₃ CN) ₂]PF ₆ (CuL _{py1} , 87)	291

13	Anhang	293
13.1	Abkürzungsverzeichnis.....	293
13.2	Kristallographischer Anhang	296
13.3	Massenspektren.....	302
14	Literaturverzeichnis	305
	Publikationen und Konferenzbeiträge	319
	Eidesstattliche Erklärung	321
	Danksagung	323

1 Die Bedeutung von Kupfer in biologischen Systemen

Biokatalysatoren, insbesondere Enzyme, besitzen eine essentielle Rolle für alle Lebewesen, da sie Reaktionen selektiv und bei relativ milden Reaktionsbedingungen katalysieren können, die mitunter weit vom thermodynamischen Gleichgewicht entfernt sind. Die enthaltenen anorganischen Metallionen sind neben der komplexen Proteinumgebung maßgeblich an biochemischen Vorgängen wie beispielsweise der Photosynthese, der Atmung, dem Metabolismus, der Stickstofffixierung, der Nervenreizleitung, der Muskelkontraktion, der Signaltransduktion sowie der Abwehr von mutagenen und toxischen Substanzen beteiligt. Die Vielfalt der Metallzentren leitet sich unter anderem aus der Bioverfügbarkeit der jeweiligen Elemente in der Evolution des Enzyms ab.^[1, 2]

Im Zusammenspiel mit Proteinen zählt vor allem Kupfer, neben Kalium, Calcium, Natrium, Magnesium und Eisen, zu den bedeutendsten Metallen und stellt mit 80-120 mg/70 kg Körpergewicht das dritthäufigste Übergangselement im menschlichen Organismus dar.^[3]

Die Mannigfaltigkeit kupferkatalysierter Enzymreaktionen ist in Abbildung 1.1 zusammengefasst und erstreckt sich über die Rolle als Sauerstofftransportproteine (z. B. Hämocyanin), als reine Elektronenübertragungs-Proteine (z. B. Plastocyanin) bis hin zu Katalysatoren für die Sauerstoffumsetzung (Oxidasen und Oxygenasen) bzw. den Abbau von Sauerstoffmetaboliten (z. B. Superoxiddismutase).^[4]

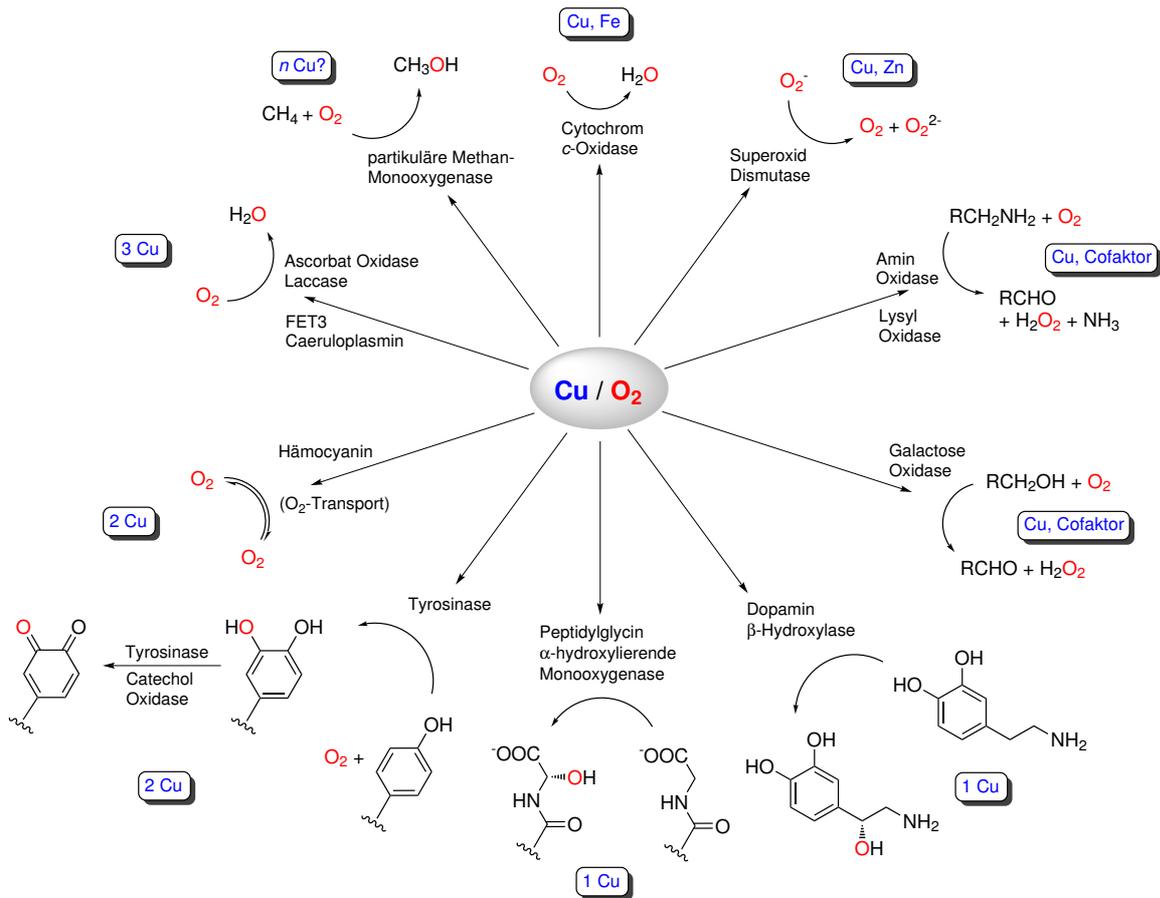


Abbildung 1.1: Übersichtliche Darstellung ausgewählter kupferhaltiger Proteine und ihre spezifischen Reaktivitäten.^[4]

Die Einteilung kupferhaltiger Enzyme findet klassisch aufgrund ihrer spektroskopischen Eigenschaften in drei unterschiedliche Typen (Kupfer Typ 1-3) statt, wobei hier von der oxidierten Form mit d^9 -Konfiguration ausgegangen wird. Durch die Erweiterung um vier sogenannte nichtklassische Typen (Kupfer Typ 4, Cu_A , Cu_B , Cu_Z) findet eine Unterteilung der Kupferzentren aktuell in sieben verschiedene Klassen statt.^[3, 5]

- Typ 1-Kupferproteine:** Basierend auf einer intensiv blauen Farbe, werden die Typ 1-Kupferproteine auch als „blaue“ Kupferproteine bezeichnet. Die Funktion des mononuklearen aktiven Zentrums beruht auf der Katalyse reversibler Elektronentransfer-Prozesse, wobei nur eine geringe Änderung der Koordinationssphäre des Zentralatoms zu verzeichnen ist. Zu den bekanntesten Vertretern dieser Klasse gehören unter anderem das Plastocyanin, welches für den Elektronentransport zwischen dem Photosystem II und dem Photosystem I in Pflanzen verantwortlich ist sowie das in Bakterien vorkommende Azurin.^[3] Infolge

eines Ligand-Metal-Charge-Transfer (LMCT)-Übergangs des Thiolat-Liganden zum Kupfer(II)-Zentrum, weisen diese Metalloenzyme im UV/Vis-Spektrum eine Absorptionsbande im Bereich von 600 nm bis 630 nm mit einem Extinktionskoeffizienten von ca. $\epsilon = 5000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ auf.^[6, 7, 8, 9]

- **Typ 2-Kupferproteine:** Diese, ebenfalls mononuklearen, Kupfer(II)-Komplexe liegen entweder quadratisch-planar oder verzerrt-tetraedrisch vor und weisen im Gegensatz zu den Typ 1-Kupferproteinen nur eine geringe Blaufärbung auf, die durch schwache Laporte-verbotene d-d-Übergänge bedingt sind. Abgeleitet von den ESR-Eigenschaften (ESR = Elektronenspinresonanz) dieser Proteine, die mit niedermolekularen Kupfer(II)-Komplexen mit N- und O-Donoren vergleichbar sind, werden sie auch als „normale“ Kupferproteine bezeichnet. Sie katalysieren eine Reihe von Redoxprozessen und können unter anderem als Oxidasen (Galactose Oxidase) fungieren, wobei Sauerstoff das Oxidationsmittel darstellt. Darüber hinaus gehören auch Monooxygenasen, wie die Dopamin- β -Monooxygenase, deren Aufgabe in dem Einbau von molekularem Sauerstoff besteht, zu dieser Klasse von Enzymen. Ein weiterer Vertreter der Typ 2-Kupferproteine stellt die Cu/Zn-Superoxid Dismutase dar, welche die Disproportionierung des zelltoxischen Superoxids zu Sauerstoff und Wasserstoffperoxid katalysiert.^[5-7]
- **Typ 3-Kupferproteine:** Die Typ 3-Kupferproteine besitzen ein dinukleares Kupferzentrum, dessen Metall-Ionen in der *oxy*-Form über ein Peroxid verbrückt sind und eine $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Geometrie aufweisen. Dies hat eine starke antiferromagnetische Kopplung der beiden Kupferzentren und demzufolge einen ESR-inaktiven Zustand zur Folge, welcher ein charakteristisches Merkmal für diese Klasse darstellt.^[6] Im UV/Vis-Spektrum können aufgrund der side-on verbrückten Geometrie eine intensive Absorptionsbande bei 340 - 380 nm ($\epsilon \sim 18000 - 25000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) sowie eine schwächere Absorptionsbande bei 510 - 550 nm ($\epsilon = 1000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) beobachtet werden.^[4] Hierbei resultiert die intensive Absorptionsbande aus einem in-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergang (CT-Übergang), während die weniger intensive Absorptionsbande einem out-of-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Peroxo zu Kupfer(II) Charge-Transfer-Übergang zugeordnet werden kann.^[10, 11] Zu den Vertretern dieser Klasse gehören die Catechol Oxidase und die Tyrosinase sowie das Sauerstofftransportprotein Hämocyanin.

- **Typ 4-Kupferproteine:** Das aktive Zentrum der Typ 4-Kupferproteine besteht aus einem Typ 2- und einem Typ 3-Zentrum, welche einen dreieckig angeordneten Cluster bilden. Mitunter gibt es auch Fälle, in denen diese Metalloproteine zusätzlich ein oder mehrere Typ 1-Zentren enthalten und daher unter anderem als „blaue“ Oxidase bezeichnet werden. Zu den Vertretern der Typ 4-Kupferproteine, die eine Reihe von Oxidations-Reaktionen katalysieren, zählen die Ascorbat Oxidase, die Laccase, und das Caeruloplasmin.^[5, 12]
- **Cu_A-Proteine:** Bei dem aktiven Zentrum des Cu_A-Proteins handelt es sich um ein gemischt-valentes dinukleares Kupferzentrum, dessen formale Oxidationszahl +1.5 beträgt und über beide Atome gemittelt wird. Beide Kupfer-Ionen weisen eine tetraedrische Geometrie auf und sind über zwei Thiolate, welche von Cysteinen stammen, miteinander verbrückt. Charakteristische Merkmale dieser Klasse sind ein siebenlinien-Spektrum im ESR und eine violette Färbung der oxidierten Spezies. Das aktive Zentrum des Cu_A-Proteins ermöglicht Elektronentransferprozesse über eine größere Distanz und wird unter anderem in der Cytochrom-*c*-Oxidase und Distickstoffmonoxid Reduktase gefunden.^[13, 14, 15, 16, 17]
- **Cu_B-Proteine:** Die Funktion der Cu_B-Proteine besteht in der Vierelektronen-Reduktion von Sauerstoff zu Wasser. Diese Enzymklasse verfügt über ein mononukleares Kupfer(II)-Zentrum, welches von drei Histidinen umgeben ist und eine trigonal-pyramidale Geometrie aufweist. Die vierte Koordinationsstelle ist hingegen unbesetzt und auf die freie Koordinationsstelle eines benachbarten Häm-Eisenzentrums gerichtet, woraus sich eine starke antiferromagnetische Kopplung der beiden Metallzentren begründet.^[5, 14, 16]
- **Cu_Z-Proteine:** Cu_Z-Proteine weisen ein tetranukleares Kupferzentrum auf, wobei drei der vier Zentren je zwei Histidine koordinieren, während das vierte Kupfer-Zentrum als mögliche Substratbindungsstelle fungiert und nur einen Histidinrest bindet. Die Kupfer-Ionen bilden hierbei die Ecken eines verzerrten Tetraeders und werden über ein Schwefelatom verbrückt. Die Isolierung des Cu_Z-Proteins erfolgte aus der Distickstoffmonoxid Reduktase, welche maßgeblich an der Reduktion von Stickstoffmonoxid zu molekularem Stickstoff beteiligt ist.^[5, 18]

Teil I

Synthese und Untersuchungen eines Modellsystems der Galactose Oxidase

2 Aktueller Kenntnisstand der Galactose Oxidase

2.1 Das Enzym Galactose Oxidase

Galactose Oxidase (GO) ist ein extrazelluläres Protein, welches vorwiegend in Pilzen vorkommt und erstmals im Jahr 1959 aus dem Pilz *Dactylium dendroides* isoliert werden konnte. Mit einer Anzahl von nur 639 Aminosäuren und einer molaren Masse von 68000 Da zählt es zu den niedermolekularen Enzymen.^[19, 20] KNOWLES *et al.*^[21] gelang es im Jahr 1991 mittels Einkristallstrukturanalyse ($MoK\alpha = 1.7 \text{ \AA}$) das aktive Zentrum der Galactose Oxidase zu charakterisieren. Unter pH neutralen Bedingungen weist das mononukleare Kupferzentrum eine quadratisch-pyramidale Koordinationssphäre auf (Abbildung 2.1).

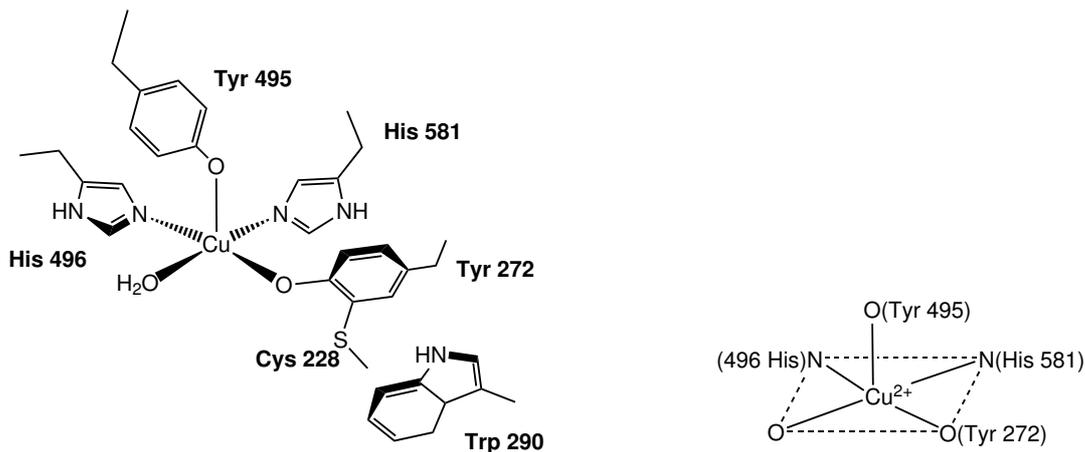


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des aktiven Zentrums von *Dactylium dendroides* bei pH 4.5.^[21, 22]

In äquatorialer Position ist das Kupfer-Ion von zwei Histidin *N*-Donoren (His 496 und His 581), einem schwach koordinierten Acetat bzw. Wassermolekül und einem Tyrosin-Rest (Tyr 2772), welcher in *ortho*-Position kovalent an einem Cystein-Rest gebunden ist, koordiniert. Die apikale Position ist durch einen weiteren Tyrosin-Rest (Tyr 495) besetzt (Abbildung 2.1).^[20-22] Das Protein besteht aus drei Domänen, die vorwiegend eine β -Struktur aufweisen und ausschließlich eine α -Helix beinhalten. Es wird davon ausgegangen, dass die Dominanz der β -Struktur sowohl innerhalb als auch zwischen den Domänen zu der bemerkenswerten Stabilität dieses Enzyms führt (Abbildung 2.2).^[21]

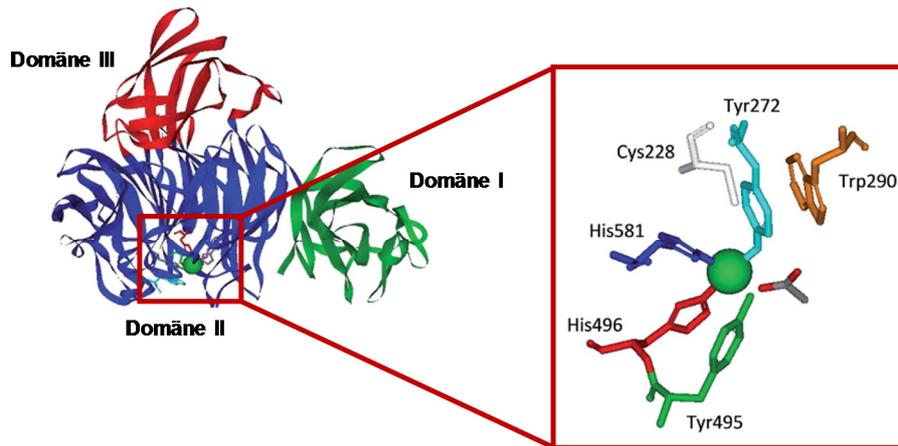


Abbildung 2.2: Dreidimensionale Darstellung des aktiven Zentrums und der Proteinumgebung der Kristallstruktur der Galactose Oxidase aus *Dactylium dendroides*.^[23]

Die Galactose Oxidase zählt, ebenso wie die Glyoxal Oxidase, zur Familie der radikalischen Oxidasen. Unter aeroben Bedingungen katalysiert das regioselektive, mononukleare Kupfer-Typ 2 Enzym die Zweielektronen-Oxidation von D-Galactose sowie eine weitreichende Anzahl an primären Alkoholen in die korrespondierenden Aldehyde unter gleichzeitiger Reduktion von molekularem Sauerstoff und Freisetzung von Wasserstoffperoxid (Abbildung 2.3).^[6, 12, 21, 24] Im Gegensatz zu primären Alkoholen, wird die Oxidations-Reaktion von sekundären Alkoholen nicht durch die Galactose Oxidase katalysiert.

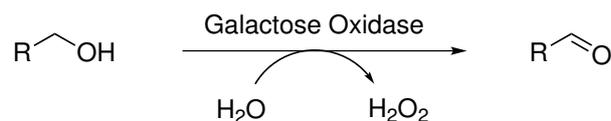


Abbildung 2.3: Galactose Oxidase vermittelte Oxidation von primären Alkoholen zu den korrespondierenden Aldehyden.

Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass das aktive Zentrum während der Katalyse drei unterschiedliche Oxidationszustände durchläuft. Die Generierung der aktiven Spezies (GO_{oxy}), welche aus einem Kupfer(II)-Zentrum und einem Tyrosylradikal besteht, erfolgt durch eine Einelektronen-Oxidation der inaktiven Kupfer(II)-Spezies (GO_{semi}) (Abbildung 2.4). Die Kupfer(II)-Radikalspezies ist prädestiniert für die Wasserstoffabstraktion des primären Alkohols. Die reduzierte Form (GO_{red}) stellt das dritte Intermediat dar und besteht aus einer Kupfer(I)-Tyrosin Einheit. Sowohl GO_{oxy} als auch GO_{red} werden als „aktive“

Formen bezeichnet, wohingegen GO_{semi} selbst nicht am Katalysezyklus teilnimmt und damit als „inaktiv“ gilt.^[25, 26]

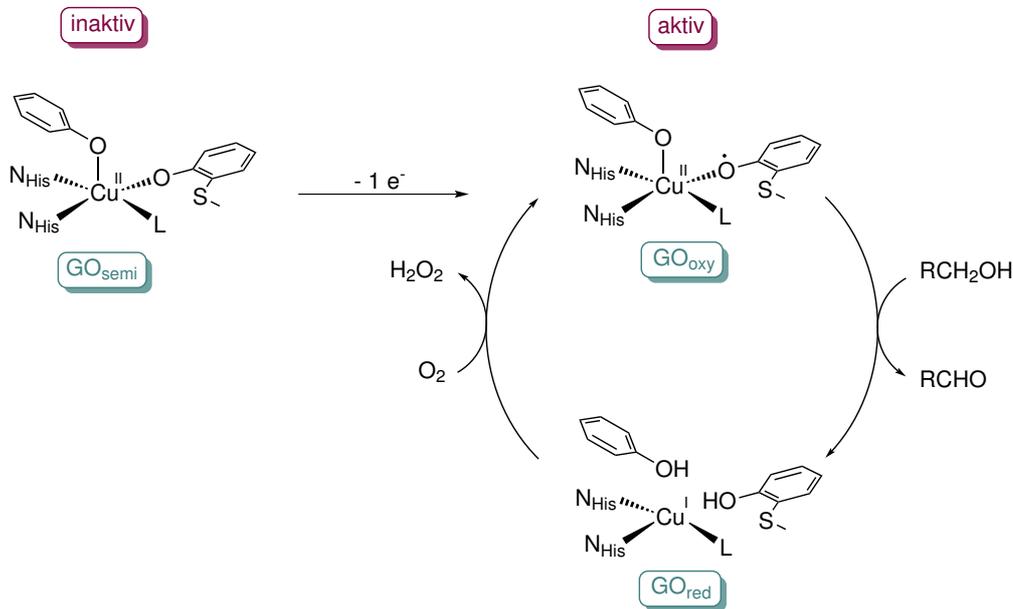


Abbildung 2.4: Redoxzustände der nativen Galactose Oxidase (L = Wasser oder Acetat).^[25]

Eine weitere Besonderheit der nativen Galactose Oxidase stellt die antiferromagnetische Kopplung des ungepaarten Elektrons des $d_{x^2-y^2}$ -Orbitals des Kupfer(II)-Ions der oxidierten Form mit dem einfach besetzten π -Orbital des Phenoxylradikals dar. Infolgedessen resultiert ein diamagnetischer Grundzustand ($S = 0$) und das Intermediat ist ESR-inaktiv.^[27, 28, 29]

Bedingt durch die kovalente Bindung des Tyrosin-Restes Tyr272 in *ortho*-Position mit dem benachbarten Cystein Cys228, werden die Redox Eigenschaften stark beeinflusst, was zu einer erleichterten Oxidation des Tyrosin-Restes zum Tyrosinat führt.^[25, 30, 31] Hierdurch resultiert ein sehr niedriges Redoxpotential von 400 mV (pH = 7.5, gegen NHE) im Vergleich zu Enzymen ohne Thioetherbrücke, dessen Werte zwischen 660 – 1000 mV liegen oder dem freien Tyrosylradikal in Lösung, für das ein Potential von ca. 900 mV beobachtet wurde.^[32, 33] DFT-Rechnungen (DFT = Dichte-Funktional-Theorie) und ESR-Studien der kupferfreien Galactose Oxidase zeigten, dass die Stabilität von GO_{oxo} auf die Delokalisierung des Radikals zurückzuführen ist und über die Thioetherbrücke hinausgeht.^[34, 35, 36] WHITTAKER *et al.* zeigten hingegen, dass über 25 % der Elektronendichte am Schwefelatom von Cys228 lokalisiert ist.^[37, 38]

2.2 Mechanistischer Zyklus der Galactose Oxidase

Das scheinbare Paradoxon, dass ein mononuklearer Kupferkomplex einen Zweielektronenprozess durchführen kann, wird durch die Beteiligung eines redox-aktiven Cofaktors gelöst, der als Radikal an das Kupferzentrum gebunden ist. Bereits im Jahr 1993 postulierten WHITTAKER *et al.* den in Abbildung 2.5 gezeigten Reaktionsmechanismus.^[39]

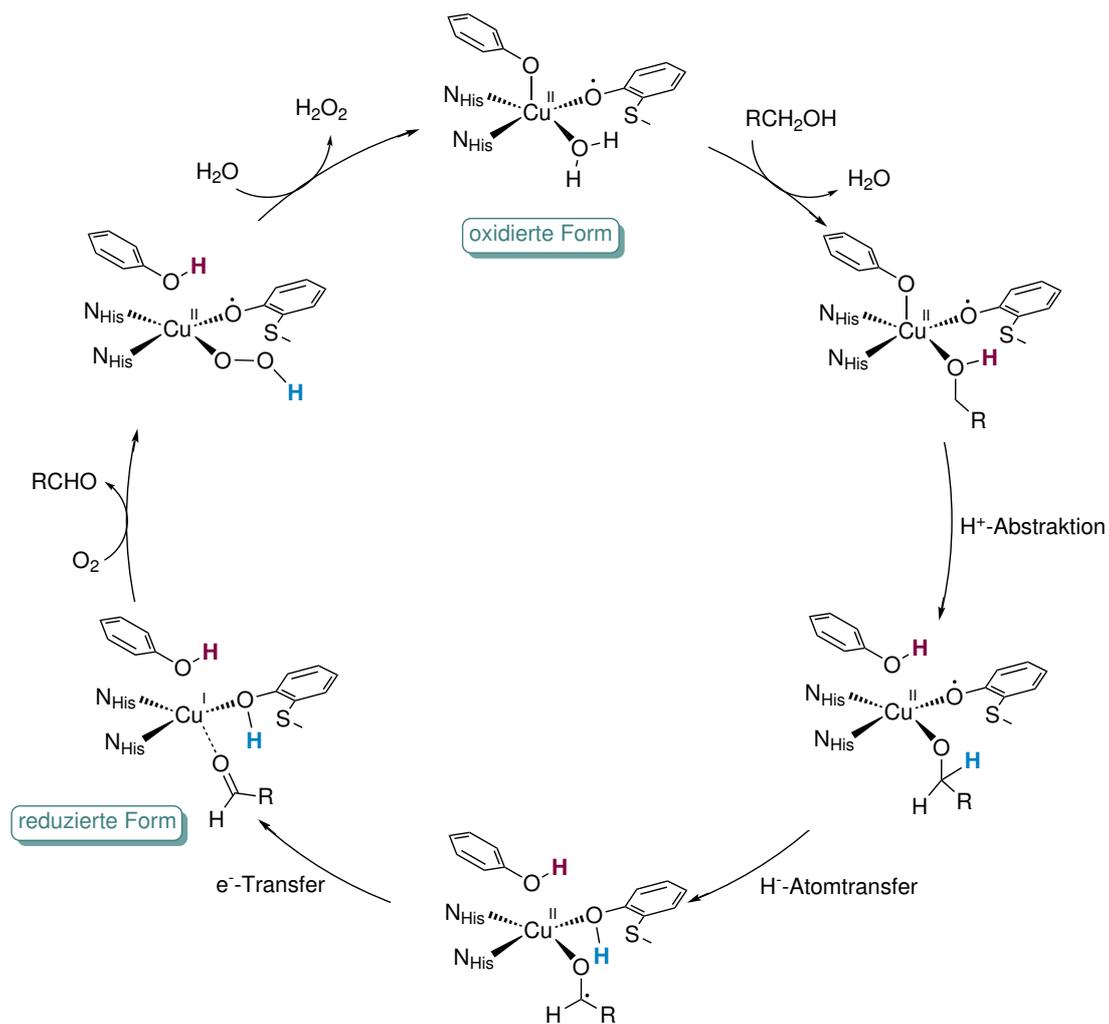


Abbildung 2.5: Postulierter Mechanismus der Galactose Oxidase vermittelten Oxidation von primären Alkoholen zu Aldehyden.^[39]

Demzufolge wird im ersten Reaktionsschritt das äquatorial gebundene Wasser durch Ethanol substituiert und das Proton der Alkoholgruppe auf das axiale Tyrosin Tyr 465 übertragen. Im darauffolgenden geschwindigkeitsbestimmenden Schritt wird ein Proton

des α -C-Atoms des koordinierten Alkoholats abstrahiert und auf das Tyrosyl-Radikal übertragen, wodurch ein Ketyl-Radikal resultiert. Der vierte Schritt der Reaktionsfolge beinhaltet einen Elektronentransfer, wodurch das Ketyl-Radikal zum Aldehyd oxidiert wird und gleichzeitig eine Reduktion des Kupfer(II)-Ions zum Kupfer(I)-Ion stattfindet. Nachdem der gebildete Aldehyd freigesetzt wurde, findet durch Einwirkung von Sauerstoff die Rückoxidation des Kupferzentrums statt, wobei Wasserstoffperoxid gebildet wird.^[24, 40]

2.3 Ausgewählte Modellsysteme der Galactose Oxidase

Proteinradikale als Katalysatoren stellen eine Besonderheit in der Natur dar, so dass nach der Entschlüsselung des aktiven Zentrums der Galactose Oxidase das Interesse vieler Arbeitsgruppen geweckt wurde, Modellsysteme zu entwickeln, die analog dem nativen Enzym eine Zweielektronen-Oxidation von primären Alkoholen zu den korrespondierenden Aldehyden katalysieren. In den letzten Jahrzehnten wurden eine Vielzahl unterschiedlicher Modellsysteme entwickelt und erste Informationen über den Katalysezyklus erhalten. Durch die Entwicklung und Modifizierung von Ligandendesigns, konnten erste Aussagen über die Auswirkung auf chemische und physikalische Eigenschaften getroffen werden.^[41, 42, 43] Um einen Überblick über die Vielfältigkeit der Modellsysteme zu erhalten, werden im Folgenden ausgewählte Modellsysteme der Galactose Oxidase näher vorgestellt.

Das erste katalytische Modellsystem der Galactose Oxidase wurde im Jahr 1986 von SASADA und Mitarbeitern veröffentlicht.^[44] Der Salen-basierte Kupfer(II)-Komplex katalysiert unter aeroben Bedingungen bei 40 °C, in Abwesenheit von Kaliumhydroxid, die Oxidation von Ethanol zu Acetaldehyd mit einer *turnover number* von 6 nach 10 h (Abbildung 2.6).

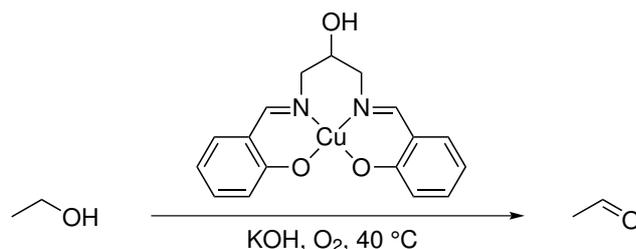


Abbildung 2.6: Oxidation von Ethanol zu Acetaldehyd mit einem Kupfer(II)-Komplex von SASADA *et al.*^[44]

Zehn Jahre später entwickelten STACK *et al.*^[45, 46] weitere Salen-basierte Liganden, die zueinander verdrillte Naphthaline beinhalten und folglich keine quadratisch-pyramidale Anordnung ermöglichen (Abbildung 2.7).

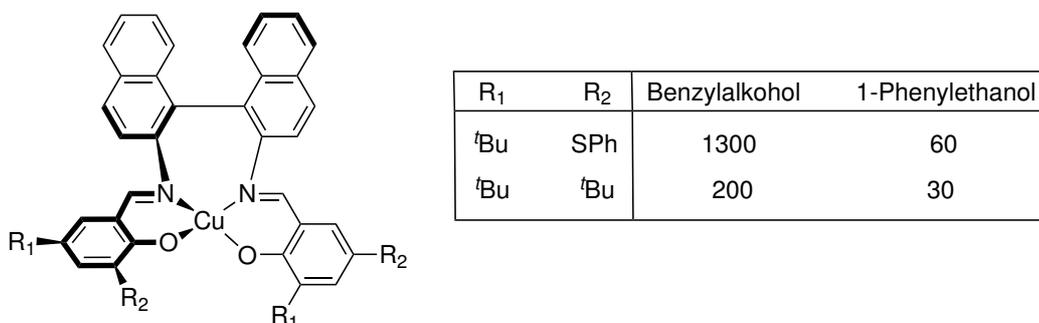


Abbildung 2.7: Links: Salen-basierter Kupfer-Komplex von STACK *et al.* mit unterschiedlichen Substituenten. Rechts: Umsatzraten für die Oxidation von Benzylalkohol und 1-Phenylethanol.^[45, 46]

Es wird vermutet, dass die nahezu tetraedrische Geometrie die Oxidationsstufe des Kupfer(I)-Zentrums stabilisiert und gleichzeitig die Koordination eines fünften Liganden erleichtert. Die integrierten *tert*-Butyl- und Thioethergruppen in *ortho*- und *para*-Position der Phenol-Einheit sollen das Tyrosylradikal stabilisieren sowie eine Dimerisierung des Phenoxyradikal-Komplexes verhindern.

In Anwesenheit einer katalytischen Menge Base konnten bei Raumtemperatur Umsatzraten von 30-1300 für die Oxidation von Benzylalkohol und 1-Phenylethanol in die entsprechenden Aldehyde erzielt werden, wobei keine Nebenprodukte durch Weiteroxidation beobachtet wurden. Der Komplex mit der Kombination aus Thiophenol- (*ortho*-Position) und *tert*-Butyl-Substituenten (*para*-Position) erwies sich hierbei als aktivstes System. Des Weiteren wurden Untersuchungen mit weniger reaktiven

aliphatischen Alkoholen durchgeführt, die mit Hilfe dieser Katalysatoren nicht in die entsprechenden Aldehyde umgesetzt werden konnten. Durch eine Einelektronen-Oxidation des Kupfer(II)-Komplexes mittels Nitrosyltetrafluorborat ist es ihnen gelungen, den entsprechenden Phenoxyradikal-Komplex zu generieren, der ebenso wie das native Enzym ESR-inaktiv ist.

WIEGHARDT *et al.*^[47] entwickelten 1998 den Liganden 4,4',6,6'-Di-*tert*-butyl-2,2'-thiobisphenol (**LH₂**), indem zwei Phenol-Einheiten über ein Schwefelatom verbrückt wurden (Abbildung 2.8). Die aktive Spezies stellt ein dinuklearer Kupfer(II)-Komplex mit zwei Phenoxyradikalen dar. Die beiden Kupfer(II)-Zentren liegen aufgrund der weiteren Phenolatgruppen in einer Bis- μ -hydroxo-Form vor. Mittels UV/Vis-Spektroskopie konnte eine charakteristische Absorptionsbande für den Phenoxyradikal-Komplex bei 404 nm ($\epsilon = 8 \cdot 10^3 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) detektiert werden.

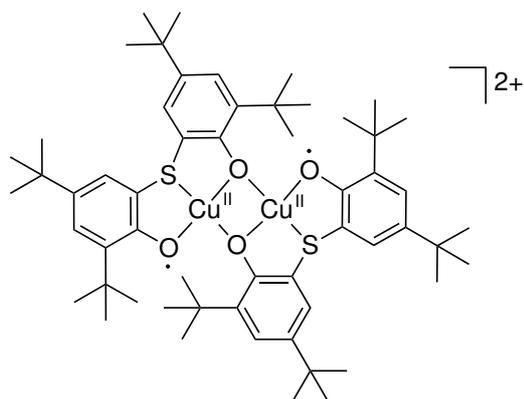


Abbildung 2.8: Dargestellt ist der zweikernige Phenoxyradikal-Komplex von WIEGHARDT *et al.*^[47]

Die primären und sekundären Alkohole Ethanol, Benzylalkohol und 2-Butanol konnten in Tetrahydrofuran, in Anwesenheit von Triethylamin, selektiv in die gewünschten Aldehyde mit Ausbeuten von bis zu 68 % überführt werden. Die Oxidations-Reaktion von 2-Propanol bzw. Benzhydrol lieferten hingegen 1,2-Glykolderivate als Hauptprodukte, welche durch oxidative Kupplungen entstanden sind. Ferner konnte durch Komplexierung von Wasserstoffperoxid mit Titanysulfit in wässriger Schwefelsäure die Entstehung von Wasserstoffperoxid während der Katalyse bewiesen werden. Anders als im nativen Enzym und den oben vorgestellten Modellsystemen, durchläuft der hier gezeigte binukleare Kupfer(II)-Komplex kein Kupfer(I)-Intermediat. Die benötigten Oxidationsäquivalente werden ausschließlich von den zwei Phenoxyradikalen zur Verfügung gestellt.

Ein Jahr später publizierten WIEGHARDT *et al.*^[48] den kationischen Liganden *N,N*-Bis(2-hydroxy-3,5-di-*tert*-butylphenyl)ammoniumtrifluoracetat ($[\text{H}_4\text{L}^3](\text{CF}_3\text{CO}_2)$), bei dem die Phenoleinheiten statt über eine Thioetherbrücke über ein sekundäres Amin verknüpft sind. Dieser Ligand kann in drei unterschiedlichen elektronischen Zuständen vorliegen, da das diamagnetische Trianion leicht in zwei nacheinander folgenden Einelektronen-Oxidationen zum radikalischen Dianion und anschließend weiter zum diamagnetischen Monoanion oxidiert werden kann (Abbildung 2.9).

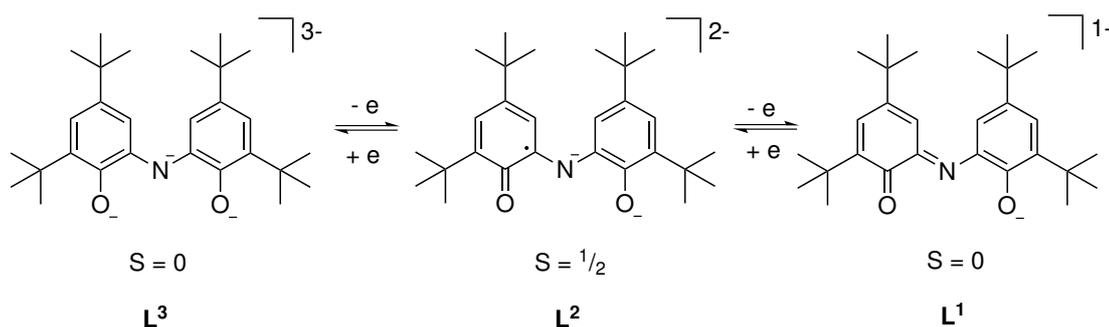


Abbildung 2.9: Modellsystem von WIEGHARDT *et al.*, dessen Ligand aus zwei Phenoleinheiten aufgebaut ist, die über ein sekundäres Amin verknüpft sind. Dargestellt sind die möglichen elektronischen Zustände des Liganden.^[48]

Der entsprechende Kupfer(II)-Komplex weist mit einer N_2O_2 -Umgebung eine verzerrt quadratisch-planare Geometrie auf. Durch intramolekulare antiferromagnetische Kopplung des Radikals mit dem Kupfer(II)-Ion wird ein diamagnetischer Grundzustand analog der aktiven Form der Galactose Oxidase beobachtet. In Tetrahydrofuran konnten bei Raumtemperatur die Substrate Ethanol und Benzylalkohol stöchiometrisch zu den entsprechenden Aldehyden oxidiert werden, wobei keine Nebenprodukte durch Weiteroxidation zu Ketonen, Carbonsäuren oder C-C-Kopplungsprodukten beobachtet wurden.

Im gleichen Jahr entwickelten WIEGHARDT *et al.*^[49] zusätzlich den Liganden *N,N'*-Bis(3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxyphenyl)-1,2-phenylendiamin ($\text{H}_4(\text{L}^1)$), welcher unter anaeroben Bedingungen durch Deprotonierung mit Triethylamin und Zugabe von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{CH}_3\text{CN})_4](\text{ClO}_4)$ in den Kupfer(II)-Komplex $\text{Cu}(\text{II})\text{L}^3$ überführt wurde (Abbildung 2.10).

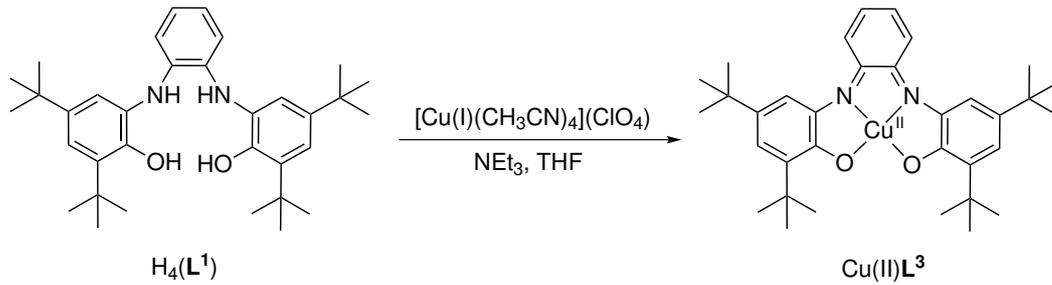


Abbildung 2.10: Kupfer(II)-Komplex Cu(II)L^3 von WIEGHARDT *et al.*^[49]

Durch den Einsatz von CuL^3 ist es ihnen gelungen, selektiv primäre Alkohole, wie Ethanol, Methanol bzw. Benzylalkohol, bei Raumtemperatur unter aeroben Bedingungen in Gegenwart von Triethylamin, mit einer Ausbeute von bis zu 95 % zu den entsprechenden Aldehyden und Wasserstoffperoxid umzusetzen. Mit dem Substrat Ethanol wurde die höchste *turnover number* von 5000 erzielt, indem 2 Äq. Triethylamin und 1 Äq. Katalysator in Tetrahydrofuran gelöst und anschließend Sauerstoff in die Reaktionslösung eingeleitet wurde. Alkohole, wie 2-Propanol oder Benzhydrol, konnten mit diesem Modellsystem nicht oxidiert werden. Der synthetisierte Komplex kann in fünf unterschiedlichen elektronischen Zuständen existieren, welche durch sukzessive Eielektronen-Oxidationen ineinander überführt werden konnten. Mittels Cyclovoltammetrie konnten, ausgehend von dem neutralen Kupfer(II)-Komplex Cu(II)L^3 , vier reversible Zustände mit charakteristischer Farbgebung beobachtet werden (Abbildung 2.11).

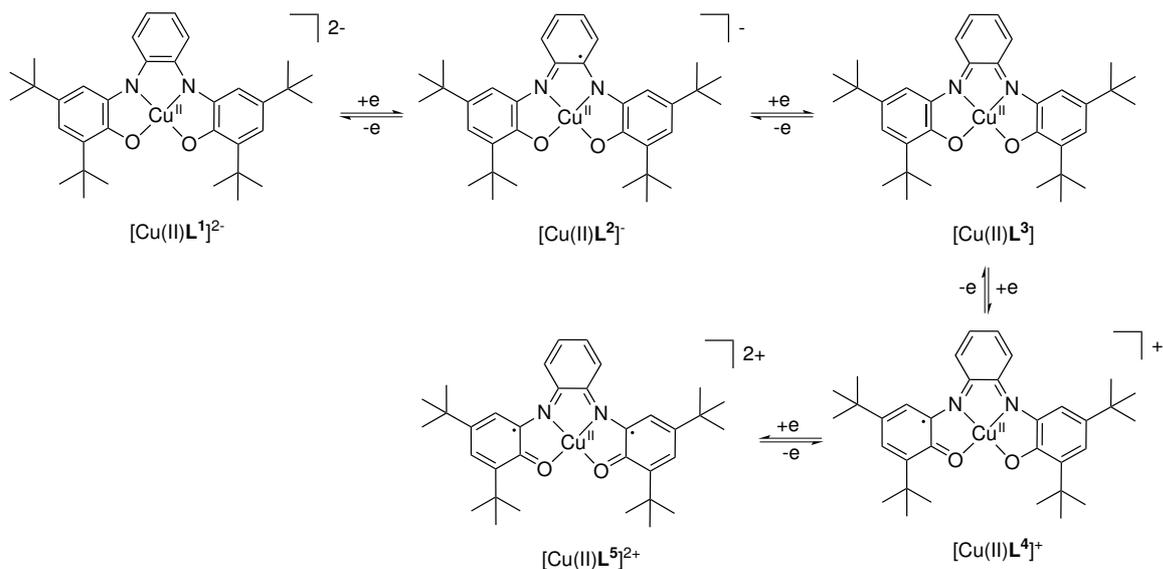


Abbildung 2.11: Dargestellt sind die vier reversiblen elektronischen Zustände, ausgehend von Cu(II)L^3 .^[49]

In Tabelle 2.1 sind die elektronischen Grundzustände, Redoxpotentiale und Farben der entsprechenden Kupfer(II)-Komplexe zusammengefasst.

Tabelle 2.1: Zusammenfassung der elektronischen Grundzustände, Redoxpotentiale und Farben der entsprechenden Kupfer(II)-Komplexe.

Kupfer(II)-Komplex	[Cu(II)L ¹] ²⁻	[Cu(II)L ²] ⁻	[Cu(II)L ³]	[Cu(II)L ⁴] ⁺	[Cu(II)L ⁵] ⁺
Elektronischer Grundzustand	S = ½	S = 0	S = ½	S = 0	S = ½
Redoxpotential / [V]	0.41	-0.06	-0.66	-1.42	/
Farbe	rot	violett	grün	blau	Gelb

Die radikalische Spezies Cu(II)L⁴ konnte mittels UV/Vis-Spektroskopie bei 450 nm ($\epsilon = 3.6 \cdot 10^3 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) detektiert werden.

Salen-basierte Modellsysteme wurden von vielen weiteren Arbeitsgruppen untersucht.^[42] Durch Substitution mit sterisch anspruchsvollen funktionellen Gruppen wird die Flexibilität des Liganden limitiert und somit das Phenoxyradikal stabilisiert, so dass sie sich als vielversprechende Galactose Oxidase-Modellsysteme bewährt haben.^[44, 46, 50, 51, 52]

Das makrozyklische Grundgerüst 1,4,7-Triazacyclononan (Tacn) kann durch bis zu drei Phenyl-Einheiten derivatisiert werden und stellt damit für viele Arbeitsgruppen einen weiteren interessanten Liganden für Oxidations-Reaktionen dar.^[28, 29, 53, 54] Eine Reihe von Kupfer(II)-Komplexen mit einem oder zwei koordinierenden Phenolaten wurden eingehend untersucht und weisen ein fünffach koordiniertes Metallzentrum mit einer verzerrt quadratisch-pyramidalen Koordinationssphäre auf. Hierbei befindet sich das Phenolat immer in äquatorialer Position, während eines der Amine in axialer Position schwach an das Kupfer-Zentrum bindet.^[43]

TOLMAN *et al.*^[27, 29] veröffentlichten 1996 die ersten Tacn-basierten Modellsysteme mit unterschiedlichen Resten in *para*- und *meta*-Position des Phenols, welche in Abbildung 2.12 dargestellt sind. Den Autoren ist es gelungen, einen stabilen Phenoxyradikal-Komplex mit zwei *tert*-Butylgruppen als Substituenten zu generieren. ESR-Messungen ergaben zudem eine antiferromagnetische Kopplung des Phenoxyradikals mit dem Metall-Zentrum. Durch die Umwandlung in den Phenoxyradikal-Komplex konnten zwei

Absorptionsbanden bei 410 nm ($\epsilon = 4000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) und 672 nm ($\epsilon = 1000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) in einem Gemisch aus Dichlormethan und Acetonitril (5 : 1) beobachtet werden.

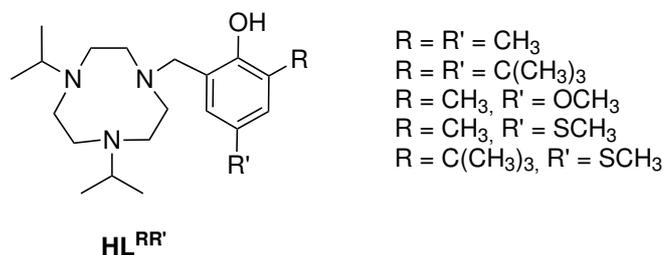


Abbildung 2.12: Tacn-basierte Liganden, entwickelt von TOLMAN *et al.*^[27, 29]

Eine weitere Klasse von Galactose Oxidase-Modellsystemen basiert auf dem bekannten Liganden Bis(pyridyl)alkylamin, welcher von vielen Forschungsgruppen adaptiert und modifiziert wurde, indem die Alkylkette bzw. das Substitutionsmuster des Phenylrings variiert wurden.^[43, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61]

Im Jahr 1997 untersuchten FUKUZUMI und Mitarbeiter die tripodalen Liganden 2-(Methylthio)-4-methyl-6-[[bis[2-(2-pyridyl)ethyl]amino]methyl]phenol (**3H**) und [Bis[2-(2-pyridyl)ethyl]amino]methyl]-4-methylphenol (**4H**), um den elektronischen Einfluss des Cysteins im nativen System besser zu verstehen (Abbildung 2.13). Anhand von NMR-Messungen und elektrochemischen Studien konnte gezeigt werden, dass die im Cu(II)**3H**-System vorhandene Methylthioethergruppe eine signifikante Elektronendonierende Wirkung ausübt. Ferner konnte aufgrund der Thioether-Einheit ein stabilisierender Effekt der Radikalspezies mittels ESR-Messungen und DFT-Rechnungen gezeigt werden.^[62]

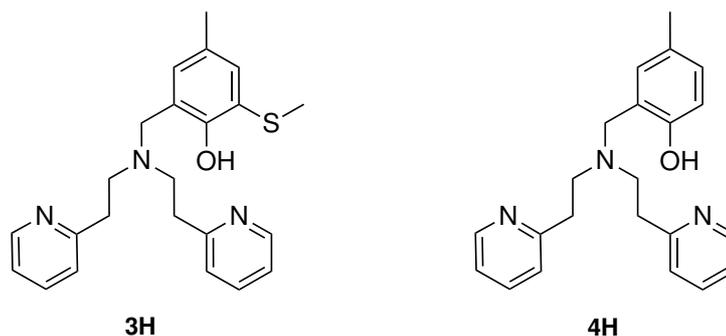


Abbildung 2.13: Gezeigt sind die Liganden **3H** und **4H** von FUKUZUMI *et al.*, welche synthetisiert wurden, um den Einfluss der Thioether-Einheit zu untersuchen.^[62]

Im Jahr 2003 stellten SHELDON *et al.*^[63, 64] ein weiteres, interessantes katalytisches Modellsystem vor. Die aktive Spezies $\text{CuBr}_2(\text{Bpy})\text{-TEMPO}$ koordiniert Bipyridin (Bipy) und 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy (TEMPO) als Liganden an das Kupfer(II)-Zentrum (Abbildung 2.14). TEMPO als Ligand stellt einen guten Protonenakzeptor dar und übt somit einen stabilisierenden Effekt auf den radikalischen Zustand aus.

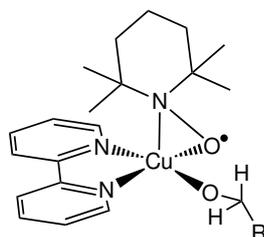


Abbildung 2.14: Dargestellt ist die aktive Kupferspezies $\text{CuBr}_2(\text{Bpy})\text{-TEMPO}$ von SHELDON *et al.*^[63]

Unter Zusatz von Base konnten die Autoren erfolgreich unterschiedliche benzyliche, allyliche und aliphatische Alkohole mit hohen Umsatzraten von 61 – 100 % zu den gewünschten Aldehyden umsetzen, ohne dass Nebenprodukte detektiert wurden. Dieses System oxidiert selektiv primäre Alkohole in die entsprechenden Aldehyde, zeigt jedoch keine katalytische Aktivität gegenüber sekundären Alkoholen. Es wurde die Hypothese geäußert, dass eine mögliche Ursache für diese Beobachtung die Geometrie des TEMPO-Liganden ist, welcher in *ortho*-Position jeweils zwei Methylgruppen beinhaltet und somit sterisch gegenüber sekundären Alkoholen abgeschirmt ist (Abbildung 2.15, links). Ein weiterer Grund stellt die Stabilisierung der radikalischen Zwischenstufe im Falle von primären Alkoholen dar, da hier das zweite β -Wasserstoffatom mit dem Sauerstoffatom

des TEMPO wechselwirken kann (Abbildung 2.15). Bei sekundären Alkoholen ist dies nicht möglich.

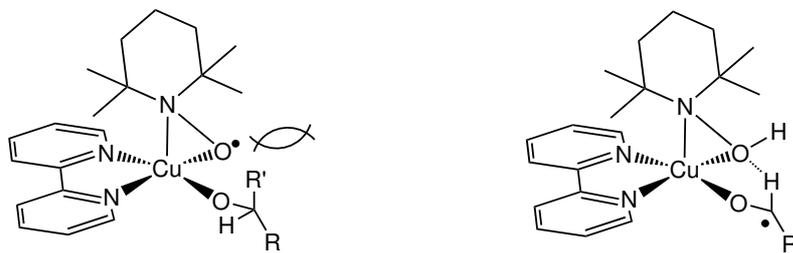


Abbildung 2.15: Links: Dargestellt ist die sterische Abstoßung zwischen dem sekundären Alkohol und den Methylgruppen des TEMPO-Liganden. Rechts: Gezeigt ist die Stabilisierung der Radikalspezies durch Wechselwirkungen mit dem primären Alkohol.^[64]

Insgesamt stellt dieses Modellsystem aufgrund der Chemoselektivität und der hohen Umsatzraten ein beeindruckendes Modellsystem dar, welches zusätzlich einen ähnlichen mechanistischen Katalysezyklus wie das native System durchläuft.^[65] Allerdings weist dieses System mit 0.006 s^{-1} im Vergleich zu dem nativen System (800 s^{-1}) eine erheblich geringere Reaktionsgeschwindigkeit auf.^[66]

3 Ziele dieser Arbeit Teil I

Die Einzigartigkeit enzymatischer Reaktionen ist vor allem in ihrer Selektivität, ihrer Spezifität und den Reaktionsgeschwindigkeiten begründet. Die Modellchemie bietet hierbei die Möglichkeit, neue Erkenntnisse über die Funktionsweise dieser Enzymsysteme zu gewinnen, indem niedermolekulare Modellsysteme entwickelt werden, die lediglich das aktive Zentrum des nativen Systems ohne den Einfluss der komplexen Proteinumgebung nachbilden. Die Entwicklung von Katalysatoren, die analog der Galactose Oxidase selektiv die Oxidations-Reaktion von primären Alkoholen zu Aldehyden vollziehen, nimmt einen großen Stellenwert in der organischen Chemie ein. Derzeit gängige Oxidationsmittel, wie Dimethylsulfoxid und Oxalylchlorid (Swern-Oxidation), Dimethylsulfoxid und *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (Pfitzner-Moffatt-Oxidation) oder das Oxidationsmittel Pyridiniumchlorochromat (Corey-Reagenz), besitzen den Nachteil, dass diese stöchiometrisch in der Reaktion eingesetzt werden müssen, unerwünschte Nebenprodukte ausbilden können oder eine Weiteroxidation zu den entsprechenden Carbonsäuren bewirken. Der Einsatz von Katalysatoren ermöglicht hingegen selektive und ressourcensparende Reaktionen und ist somit ökologisch von Bedeutung.

Ein Forschungsschwerpunkt dieser Arbeit besteht in der Synthese und Untersuchung eines Modellsystems für die Galactose Oxidase-Reaktion. In der Literatur gilt der Ligand *N*-(2-hydroxyphenyl)-methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (**L6-H**) nach Komplexierung zum Kupfer-Komplex als ein aussichtsreiches Modellsystem der Galactose Oxidase (Abbildung 3.1). Durch Einkristallstrukturanalyse des entsprechenden Kupfer(II)-Komplexes wurde eine geeignete Geometrie für die Katalyse postuliert, jedoch keine Oxidations-Reaktionen mit externen Substraten durchgeführt.^[57, 58]

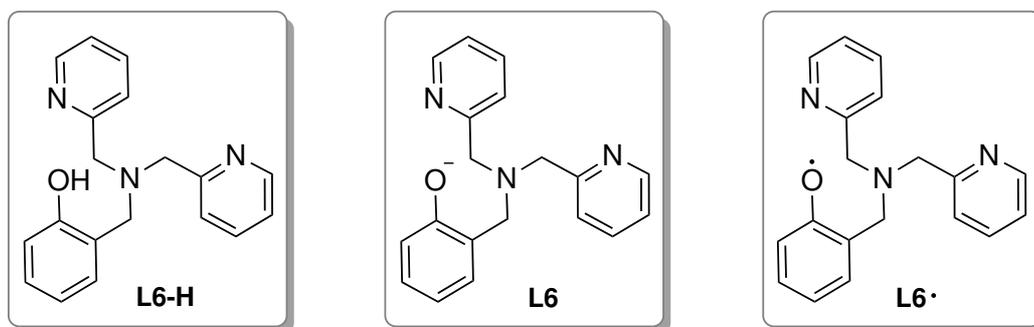


Abbildung 3.1: Links: Struktur des protonierten Liganden **L6-H**; Mitte: Struktur des deprotonierten Liganden **L6**; rechts: Struktur des radikalischen Liganden **L6·**.

Erste Untersuchungen des Kupfer(I)-Komplexes $[\text{Cu(I)(L6)}]\text{PF}_6$ mit dem Ligand *N*-(2-hydroxyphenyl)-methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (**L6-H**) von M. Rolff^[67] zeigten ausschließlich eine stöchiometrische Umsetzung der Oxidations-Reaktion von Ethanol zu Acetaldehyd. Die Aufgabe besteht in der Verbesserung der aeroben Reaktionsbedingungen, um die Effizienz des Kupfer(I)-Komplexes auf ein katalytisches Niveau zu erhöhen. Aufgrund des geringen Dampfdruckes des Produktes, soll zu dessen Charakterisierung und quantitativen Bestimmung der Ausbeute eine Derivatisierung mittels 3-Methylbenzothiazolin-2-on-hydrazon-hydrochlorid-monohydrat (MBTH) vorgenommen werden. Abschließend sollen mechanistische Studien durchgeführt werden, um die Ausbildung eines Phenoxyradikals während der Katalyse zu überprüfen und damit den etablierten Reaktionsmechanismus auch für dieses System zu bestätigen.

Ergänzend hierzu sollen DFT-Studien Informationen über die Geometrie des $[\text{Cu(II)(L6}\cdot\text{)}(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ -Komplexes liefern und eine Aussage über die magnetische Kopplung des Phenoxyradikals mit dem $d_{x^2-y^2}$ -Orbital des Kupfer(II)-Zentrums ermöglichen.

4 Ergebnisse und Diskussion bezüglich eines Modellsystems der Galactose Oxidase^[68]

4.1 Syntheseweg zur Darstellung von *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (L6-H, 7) und [Cu(I)L6]PF₆ (8)

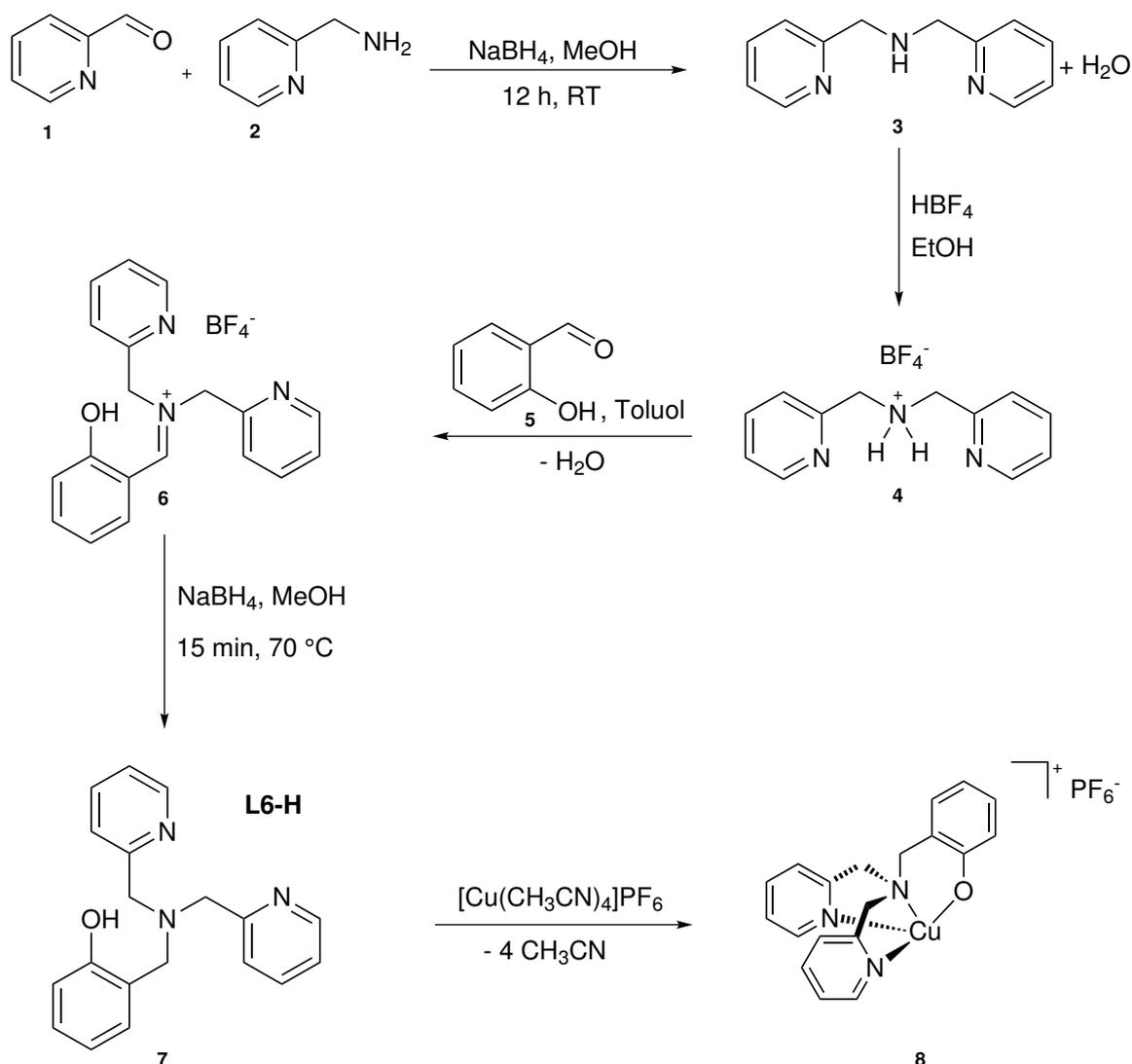


Abbildung 4.1: Gezeigt ist die Syntheseroute für die Darstellung von *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (L6-H) (7) und die anschließende Komplexbildung zu dem Kupfer(I)-Komplex [Cu(I)L6]PF₆ (8).

Der tripodale Ligand *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (**L6-H**) (**7**) wurde nach einer Synthesevorschrift von TROELTZSCH *et al.*^[69] hergestellt. Die Darstellung der hierfür verwendeten Ausgangsverbindung Bis-(2-pyridylmethyl)amin (**2**) orientierte sich an der Synthesevorschrift von ANTUNES *et al.*^[70]. Ausgehend von 2-Pyridincarboxyaldehyd (**1**) und 2-Pyridylmethylamin (**2**) wurde in Anwesenheit von Natriumborhydrid (NaBH₄) eine Kondensationsreaktion in Methanol (MeOH) durchgeführt und Bis-(2-pyridylmethyl)amin (**3**) erhalten (Abbildung 4.1). Durch das Hinzufügen von Tetrafluorborsäure (HBF₄) zu Bis-(2-pyridylmethyl)amin (**3**) wurde das protonierte Zwischenprodukt Di-(2-picolyl)ammoniumtetrafluoroborat (**4**) erhalten. Die verwendete Menge an Ethanol entsprach der 10-fachen Menge gegenüber dem in der Literatur eingesetzten Volumen. Nur so konnte eine vollständige Fällung der protonierten Verbindung **4** erreicht werden. Darauf folgend wurde mit Di-(2-picolyl)ammoniumtetrafluoroborat (**4**) und Salicylaldehyd (**5**) eine Iminkondensation in Toluol am Wasserabscheider durchgeführt. Durch die Verwendung eines Wasserabscheiders findet eine Verschiebung des Gleichgewichts der Reaktion in Richtung der Produkte statt. Der erhaltene farblose Feststoff konnte ohne weitere Aufreinigung im letzten Syntheseschritt zu dem Zielliganden *N*-(2-hydroxyphenyl)methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (**L6-H**) (**7**) reduziert werden. Die Protonierung der Imin-Funktion fand mit Hilfe des Reduktionsmittels Natriumborhydrid in Methanol statt. *N*-(2-hydroxyphenyl)methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (**L6-H**) (**7**) konnte als gelbes Pulver in hoher Reinheit erhalten werden. Die anschließende Komplexierung zu dem Kupfer(I)-Komplex [Cu(I)**L6**]PF₆ (**8**) erfolgte unter Schlenkbedingungen. Hierfür wurde der tripodale Ligand in Acetonitril (CH₃CN) vorgelegt und langsam Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat, gelöst in Acetonitril, hinzuge tropft. Nach kurzem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und [Cu(I)**L6**]PF₆ (**8**) als kristalliner gelber Feststoff mit hoher Reinheit erhalten.

4.2 Katalytische Galactose Oxidase-Reaktion von [Cu(I)L6]PF₆

Der Ligand *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis(2-pyridylmethyl)amin (**L6-H**) ist ein tripodaler *N*-Donorligand, welcher eine an das Kupferzentrum koordinierende Phenol-Funktion in *ortho*-Position beinhaltet.^[57, 58, 69] M. Rolff ist es in vorangegangener Arbeit gelungen, einen Kupfer(II)-Komplex mit dem **L6-H**-Liganden auszukristallisieren (Abbildung 4.2).^[67] Das Kupferzentrum in dem erhaltenen [Cu(II)(**L6-H**)(CH₃CN)](ClO₄)₂·C₃H₆O-Komplex (C₃H₆O = Aceton) weist eine verzerrt quadratisch-planare Umgebung auf. Der N-Cu-N-Winkel zwischen den Stickstoffdonoren der Pyridinringe weist einen Winkel von 165.31° auf. Der Winkel zwischen dem koordinierenden Stickstoff des Acetonitrils und der tertiären Amin-Funktion beträgt 170.40°. Die Bindungslängen befinden sich in guter Übereinstimmung mit ähnlichen Komplexen von NISHIDA *et al.*^[57] und TROELTZSCH *et al.*^[69]. Der Cu-O-Abstand von 2.52 Å ist dem der natürlichen Galactose Oxidase, exprimiert aus *Dactylium Dendroides*, mit 2.96 Å sehr ähnlich.^[21, 22]

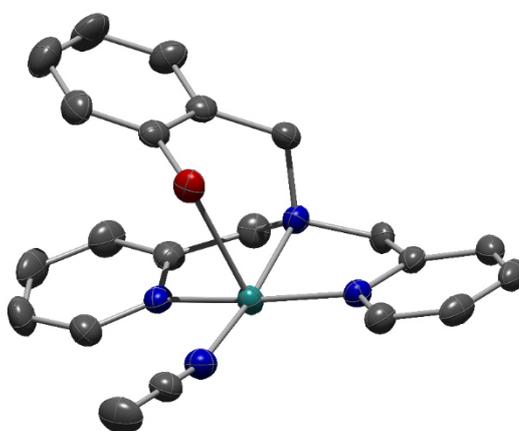


Abbildung 4.2: Kristallstruktur von [Cu(II)(**L6-H**)(CH₃CN)]²⁺. Die Wasserstoffatome wurden für eine verbesserte Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, O: rot, Cu: türkis.^[67]

Die guten geometrischen Übereinstimmungen gegenüber dem natürlichen aktiven Zentrum der Galactose Oxidase, macht es interessant, den Kupfer(I)-Komplex [Cu(I)**L6**]PF₆ auf katalytische Galactose Oxidase-Aktivität zu untersuchen.

Aufgrund der guten Verfügbarkeit und des geringen sterischen Anspruchs, wurde Ethanol als Substrat gewählt. Durch Verwendung von Ethanol konnte größtenteils ausgeschlossen werden, dass eine katalytische Umsetzung durch abstoßende Wechselwirkungen zwischen dem Substrat und dem Ligandengerüst des Kupfer(I)-Komplexes verhindert wird. Erste Untersuchungen von M. Rolff zeigten ausschließlich einen stöchiometrischen Umsatz von Ethanol zu Acetaldehyd.

In dieser Arbeit ist es gelungen, diese geringe Umsatzrate auf ein katalytisches Niveau zu steigern. Es wurde vermutet, dass der ausschließlich stöchiometrische Umsatz mit der geringen Stabilität des eingesetzten $[\text{Cu}(\text{I})\text{L6}]\text{PF}_6$ -Komplexes zusammenhängt, da es nicht gelang den $[\text{Cu}(\text{I})\text{L6}]\text{PF}_6$ -Komplex NMR-spektroskopisch zu untersuchen. Nach Lösen einer definierten Menge des Kupfer(I)-Komplexes in unterschiedlichen getrockneten und entgasten deuterierten Lösungsmitteln, wurde binnen weniger Minuten eine Umwandlung zu dem entsprechenden Kupfer(II)-Komplex beobachtet. Durch einen sichtbaren Farbumschlag von blassgelb zu grün und der stark paramagnetischen NMR-Spektren, konnte die geringe Stabilität von $[\text{Cu}(\text{I})\text{L6}]\text{PF}_6$ in Lösung bewiesen werden. Die Synthese von $[\text{Cu}(\text{I})\text{L6}]\text{PF}_6$ ergab einen gelben Feststoff. Die Farbänderung von blassgelb zu grün, die sehr charakteristisch für Kupfer(II)-Komplexe ist, fand demnach erst bei dem erneuten Lösen des Kupfer(I)-Komplexes statt. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass es zwar möglich ist $[\text{Cu}(\text{I})\text{L6}]\text{PF}_6$ auf diesem Weg zu synthetisieren, ein erneutes Lösen jedoch zu einer Umwandlung in den inaktiven Kupfer(II)-Komplex führt, was wiederum die geringe Umsatzrate erklären könnte. Ausgehend von dieser Erkenntnis wurde $[\text{Cu}(\text{I})\text{L6}]\text{PF}_6$ *in-situ* generiert, indem eine $280 \mu\text{M}$ Lösung, bestehend aus Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat und 1 Äq. **L6-H**, in 0.6 mL Acetonitril hergestellt und mit Ethanol auf 20 mL aufgefüllt wurde. Nach kurzem Rühren bei Raumtemperatur, wurden zur Deprotonierung der Phenol-Funktion 4 Äq. Triethylamin hinzugefügt. Anschließend wurde molekularer Sauerstoff in die Reaktionslösung eingeleitet. Hierbei fand die durch den Kupfer(I)-Komplex vermittelte Oxidation von Ethanol zu Acetaldehyd statt (Abbildung 4.3).

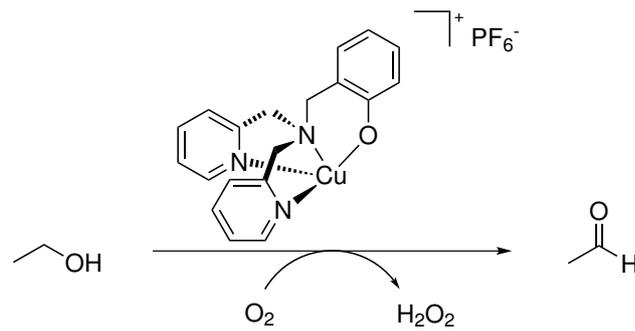


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung der [Cu(I)L6]PF₆ vermittelten Umsetzung von Ethanol zu Acetaldehyd.

Der hohe Dampfdruck von Acetaldehyd von 1006 hPa^[71] lies es nicht zu, das gebildete Produkt quantitativ zu isolieren. Um dennoch die Ausbeute zu bestimmen und das Produkt zu charakterisieren, wurde eine Derivatisierung mit 3-Methylbenzothiazolin-2-on-hydrazon-hydrochlorid-monohydrat (MBTH) und einem Oxidationsmittel nach ELBERT *et al.*^[72] durchgeführt. Diese Methode machte es möglich, die Bildung des Acetaldehyds während der Reaktion UV/Vis-spektroskopisch zu detektieren. Der Mechanismus der Derivatisierung ist in Abbildung 4.4 gezeigt.

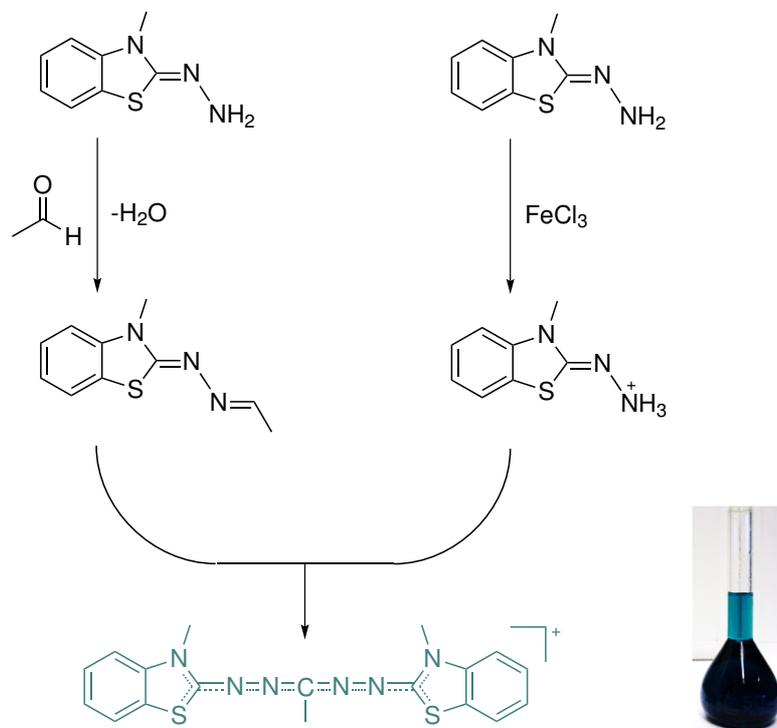


Abbildung 4.4: Syntheschema für die Darstellung des derivatisierten Acetaldehyds mit MBTH und FeCl₃.

Im ersten Schritt erfolgt ein nukleophiler Angriff des Hydrazonderivates an das Carbonyl-Kohlenstoff des Aldehyds. Zeitgleich findet eine Eisen(III)chlorid vermittelte Oxidation von MBTH zu einem Hydrazonium-Ion statt. Das Reaktionsprodukt der beiden Intermediate weist eine grün-blaue Färbung auf und ist UV/Vis-spektroskopisch anhand der zwei charakteristischen Absorptionsbanden bei 622 nm und 661 nm zu verfolgen.

Für die Derivatisierung wurden 2.50 mL der oxidierten Probelösung mit 2.50 mL einer 0.4 %-igen wässrigen Lösung von MBTH versetzt. Nach 30 min wurden zu dem Reaktionsgemisch 12.5 mL einer 0.2 %-igen wässrigen Eisen(III)chlorid-Lösung hinzugefügt, weitere 5 min gewartet und anschließend mit Aceton auf ein Volumen von 50.0 mL aufgefüllt. Für jede erstellte Probe wurden insgesamt fünf Messungen durchgeführt. Die derivatisierte Reaktionslösung wurde gegen eine Referenzlösung gemessen, welche reines Ethanol enthielt. Die erhaltenen UV/Vis-Spektren sind in Abbildung 4.5 gezeigt.

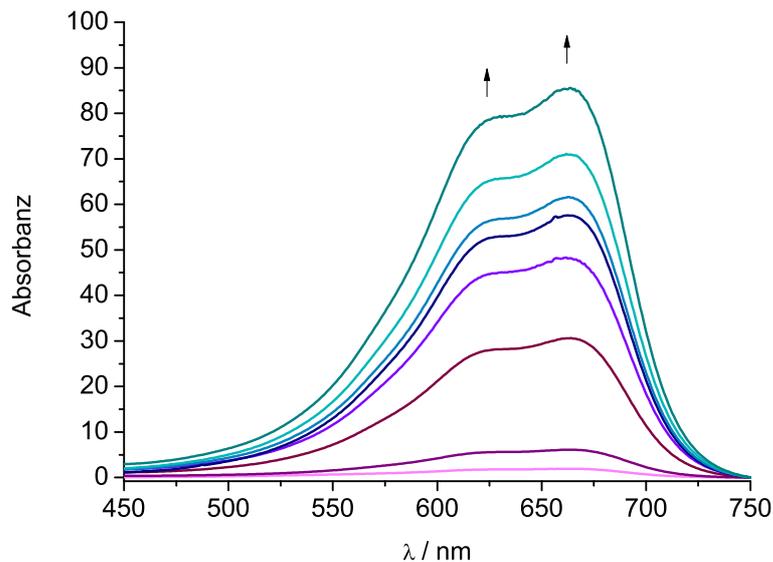


Abbildung 4.5: UV/Vis-Absorptionsspektren der Bildung von Acetaldehyd nach Oxidation einer 280 µM Lösung von Ethanol in Anwesenheit von 4 Äq. Triethylamin und anschließender Derivatisierung mit MBTH (Schichtdicke: $l = 1$ cm). Das Spektrum mit der geringsten Absorbanz entspricht einer Oxidation nach 36 min, dasjenige mit der höchsten Absorbanz einer Oxidation nach 23 h. Die Absorbanz wurde aufgrund der durchgeführten Verdünnung angepasst.

Kapitel 4: Ergebnisse und Diskussion bezüglich eines Modellsystems der Galactose Oxidase

Um anhand der Absorbanzen der UV/Vis-Spektren Rückschlüsse auf die jeweilige Stoffmenge des Aldehyds ziehen zu können, ist es erforderlich gewesen, Kalibriergeraden zu erstellen. Hierfür wurde sowohl für die Absorptionsbande bei 622 nm als auch für die Absorptionsbande bei 661 nm eine Kalibrierung durchgeführt, um eine möglichst exakte Aussage der entstehenden Stoffmenge treffen zu können.

Hierfür wurde zunächst eine Reihe an Maßlösungen hergestellt (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: Zusammenfassung der verwendeten Maßlösungen A-C.

Probename	Substanz	Einwaage	Probenvolumen	Stoffmenge
Maßlösung A	Acetaldehyd	139.0 mg	1 L dest. H ₂ O	3.16 μ mol
Maßlösung B	MBTH	200.1 mg	50 mL dest. H ₂ O	8.56 μ mol
Maßlösung C	FeCl ₃	500.3 mg	250 mL dest. H ₂ O	3.08 mmol

Ausgehend von Maßlösung A, wurden fünf Probelösungen hergestellt (Tabelle 4.2).

Tabelle 4.2: Hergestellte Probelösungen ausgehend von Maßlösung A.

Probennummer	Maßlösung A	Probenvolumen	Stoffmenge Acetaldehyd
1	1 mL	100 mL dest. H ₂ O	31.6 μ mol
2	2 mL	100 mL dest. H ₂ O	63.1 μ mol
3	3 mL	100 mL dest. H ₂ O	94.7 μ mol
4	4 mL	100 mL dest. H ₂ O	126 μ mol
5	5 mL	100 mL dest. H ₂ O	158 μ mol

Ausgehend von den fünf Probelösungen, wurden jeweils 2.5 mL entnommen und mit 2.5 mL der Maßlösung B versetzt. Nach 30 min fand eine Zugabe von Maßlösung C statt. Es wurde erneut 5 min gewartet und anschließend das Reaktionsgemisch auf ein Volumen von 50 mL mit Aceton aufgefüllt. Die Reaktionslösungen wurden gegen eine Referenz mit dest. Wasser gemessen. Die maximalen Absorbanzen bei 622 nm und 661 nm wurden gegen die entsprechende Acetaldehydkonzentration aufgetragen (Abbildung 4.6).

Kapitel 4: Ergebnisse und Diskussion bezüglich eines Modellsystems der Galactose Oxidase

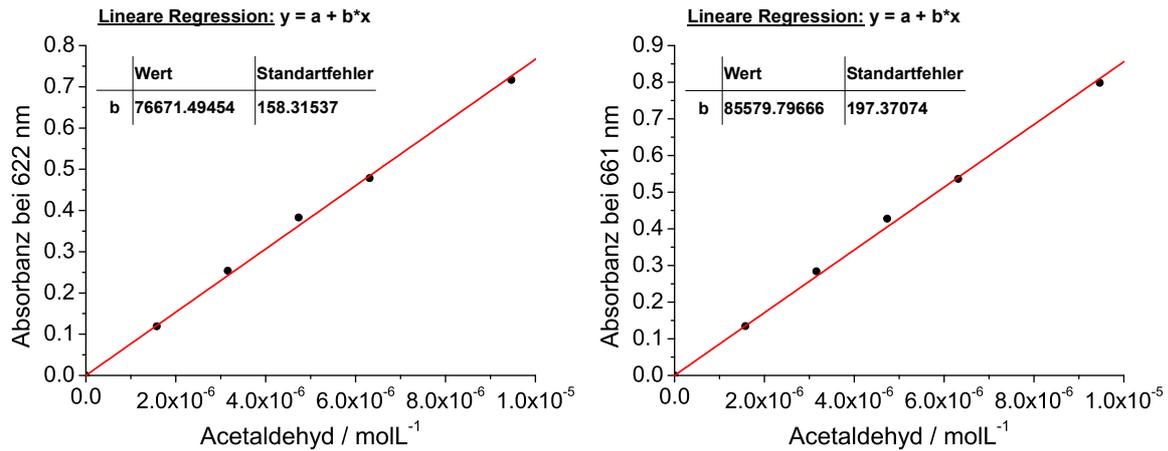


Abbildung 4.6: Auftragung der Absorbanz gegen die Acetaldehydkonzentration. Links: Kalibriergerade bei 622 nm; rechts: Kalibriergerade bei 661 nm.

Ausgehend von diesen Kalibriergeraden, konnte für jedes erhaltene Absorptionsspektrum der oxidierten Lösung in Abbildung 4.5 sowohl die Acetaldehydkonzentration für das Maximum bei 622 nm als auch für das Maximum bei 661 nm bestimmt werden. Der Mittelwert der Acetaldehydkonzentrationen wurde zur Ermittlung der katalytischen Produktivität herangezogen.

Die Effektivität eines Katalysators kann mit Hilfe der dimensionslosen Umsatzrate, bzw. der *turnover number* (TON), beschrieben werden und gibt die Menge des erzeugten Produktes an, die mit einer definierten Menge Katalysator gebildet wurde (Gl. 4.1).

$$\text{turnover number (TON)} = \frac{[\text{Produkt}]}{[\text{Katalysator}]} \quad (4.1)$$

Die Aktivität eines Katalysators wird durch die Umsatzfrequenz bzw. *turnover frequency* (TOF) wiedergegeben. Sie beschreibt die Bildungsgeschwindigkeit des Produktes bezogen auf die Katalysatorgeschwindigkeit (Gl. 4.2).

$$\text{turnover frequency (TOF)} = \frac{\text{TON}}{\text{Zeit}} \quad (4.2)$$

Anhand von Abbildung 4.7 konnte eine maximale *turnover number* von 74 nach 23 h ermittelt werden. Die zeitabhängige Auftragung der *turnover number* und der *turnover frequency* sind in Abbildung 4.7 dargestellt.

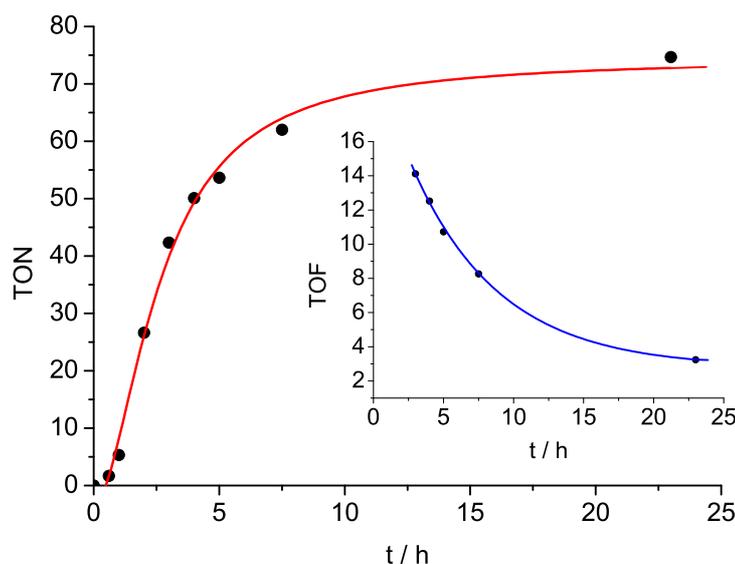


Abbildung 4.7: Auftragung der *turnover number* gegen die Zeit der katalytischen Bildung von Acetaldehyd. Einschub: Zeitabhängige Auftragung der *turnover frequency*.

Innerhalb der ersten 10 h wird eine kontinuierliche Zunahme der Produktkonzentration beobachtet. Anschließend findet keine weitere Umsetzung zum Produkt statt.

Da während der Oxidations-Reaktion pro gebildetem Acetaldehyd 1 Äq. Wasserstoffperoxid als Nebenprodukt anfällt, ist eine Bestimmung der katalytischen Effizienz von $[\text{Cu(I)L6}]\text{PF}_6$ auch anhand der Wasserstoffperoxidkonzentration möglich. Der Nachweis von Wasserstoffperoxid wurde in der vorangegangenen Diplomarbeit von 2012^[73] anhand von drei unterschiedlichen Methoden versucht nachzuweisen. Allerdings ergaben weder die Reduktion von Tetrazoliumblau zu Formazan, der Nachweis mit Hilfe von Kaliumiodid, Ammoniumheptamolybdat und Schwefelsäure, noch der Wasserstoffperoxid-Nachweis durch Derivatisierung mit Titanylsulfonat, eine nennenswerte Bildung bzw. Akkumulation von Wasserstoffperoxid während der Katalyse von Ethanol zu Acetaldehyd. Eine mögliche Ursache hierfür, stellt die geringe Umsatzrate von 74 *turnover* dar, die einen Nachweis der geringen Wasserstoffperoxidkonzentration nicht zulässt.

4.3 Erzeugung eines Phenoxyradikalkomplexes

Der in der Literatur postulierte Reaktionsmechanismus der Galactose Oxidase durchläuft ein Phenoxyradikal während der Katalyse (Abbildung 2.5).^[39] Die Fähigkeit des hier vorgestellten Kupfer(I)-Systems, ebenfalls während der Katalyse ein stabiles Phenoxyradikal ausbilden zu können, sollte bei tiefen Temperaturen ermittelt werden. Tiefe Temperaturen können eine signifikante Geschwindigkeitsreduzierung der Katalyse bewirken und somit gegebenenfalls eine Beobachtung des Phenoxyradikals ermöglichen. Bei $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde eine Reaktionslösung, bestehend aus $[\text{Cu(I)L6}]\text{PF}_6$ in Acetonitril ($280\text{ }\mu\text{M}$) und 4 Äq. Triethylamin, generiert. Nach langsamen Einleiten von molekularem Sauerstoff in die gelbe Lösung, wurden mit Hilfe einer Tauchsonde, in Abständen von 60 s UV/Vis-Spektren aufgenommen. Es konnte ausschließlich eine Grünfärbung der Lösung beobachtet werden und die Entstehung einer breiten d-d-Bande bei 840 nm, die charakteristisch für einen Kupfer(II)-Komplex ist. Es konnte jedoch keine Bande für das Phenoxyradikal beobachtet werden.

Aus diesem Grunde wurde eine alternative Methode angewendet. In der Vergangenheit wurden ähnliche tripodale Modellkomplexe synthetisiert und auf Basis der korrespondierenden mononuklearen Kupferkomplexe Kupfer(II)-Phenoxyradikale erzeugt, die ähnliche spektroskopische Eigenschaften besitzen, wie die des natürlichen Systems.

FUKUZUMI und Mitarbeiter entwickelten Modellsysteme für die Galactose Oxidase, die die Liganden **1H** und **2H** beinhalten (Abbildung 4.8).^[60]

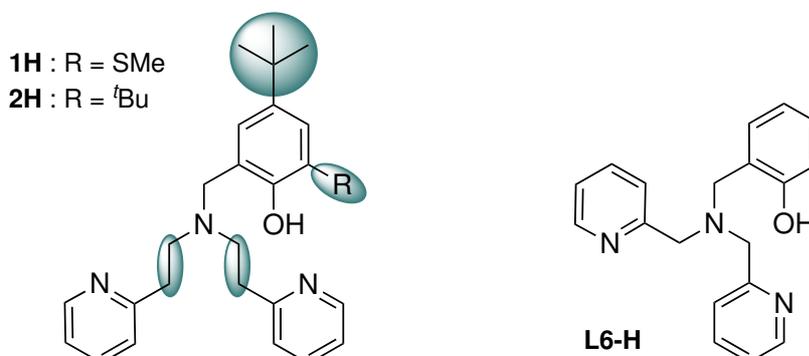


Abbildung 4.8: Links: Struktur der von FUKUZUMI *et al.* entwickelten Liganden **1H** und **2H**; rechts: **L6-H**.

Im Vergleich zu dem hier vorgestellten Liganden **L6-H** (Abbildung 4.8), weisen die Liganden **1H** und **2H** ebenfalls eine Kombination aus zwei Pyridin-Einheiten, einem tertiären Amin und einer Phenolgruppe auf. Im Gegensatz zu dem **L6-H** sind die Pyridin-Funktionen über eine Ethylen-Einheit mit dem tertiären Amin verbrückt. Der Phenolring ist, ebenso wie im **L6-H** Liganden, über eine Methylbrücke verknüpft. Die Hydroxy-Einheit befindet sich bei allen Modellsystemen in 2-Position. Während im **L6-H** System keine weitere Substitution am Phenylring durchgeführt wurde, befindet sich in den Modellsystemen von FUKUZUMI *et al.* in 5-Position eine *tert*-Butylgruppe und zusätzlich in 3-Position eine Thioethergruppe (**1H**) bzw. eine weitere *tert*-Butylgruppe (**2H**).

Den Autoren ist es gelungen, die Bildung der Radikale $[\text{Cu}(\text{II})(\mathbf{1}\cdot)(\text{NO}_3)]^+$ und $[\text{Cu}(\text{II})(\mathbf{2}\cdot)(\text{NO}_3)]^+$ UV/Vis-spektroskopisch zu verfolgen. Ausgehend von den Liganden **1H** und **2H**, erzeugten FUKUZUMI und Mitarbeiter zunächst jeweils einen dinuklearen Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu}_2(\text{II})(\mathbf{1}^-)_2](\text{PF}_6)_2$ bzw. $[\text{Cu}_2(\text{II})(\mathbf{2}^-)_2](\text{PF}_6)_2$. Durch Zugabe von 1 Äq. Cer(IV)ammoniumnitrat $(\text{NH}_4)[\text{Ce}(\text{IV})(\text{NO}_3)_6]$, CAN) pro Dikupfereinheit zu einer Lösung des dimeren Kupfer(II)-Phenolat-Komplexes in Acetonitril, konnte eine rasche Abnahme der Ligand-Metall-Charge-Transfer-Absorptionsbande des dimeren Komplexes bei einer Wellenlänge von 522 nm beobachtet werden. Gleichzeitig bildeten sich zwei neue Absorptionsbanden bei 415 nm ($\epsilon = 1790 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) und 876 nm ($\epsilon = 550 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) aus.

Basierend auf diesen Untersuchungen, wurde auch in diesem Fall zunächst der dinukleare Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu}_2(\mathbf{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ synthetisiert, indem *N*-(2-Hydroxyphenyl)-methyl-bis-(2-picolyl)amin (**L6-H**) ($2.4 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$) in Methanol gelöst und anschließend 1 Äq. Triethylamin zur Deprotonierung des Alkohols hinzugefügt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 2 Äq. Natriumhexafluorophosphat versetzt. Der Ansatz wurde für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf dest. Wasser (100 mL) gegeben. Der ausgefallene grüne Feststoff wurde abfiltriert und mit dest. Wasser und Diethylether gewaschen. Das grüne Produkt wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Diethylether umkristallisiert. M. Rolff ist es in seiner Doktorarbeit gelungen, $[\text{Cu}_2(\mathbf{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ auszukristallisieren (Abbildung 4.9).^[67] Die Kupferzentren sind über zwei koordinierende Sauerstoffatome in einer μ -1,1-Geometrie zu einem Dimer verknüpft. Der C-O-Abstand beträgt 1.9359 Å und 2.2092 Å. Der Cu-Cu-Abstand der beiden Metallzentren weist einen

Abstand von 3.1629 Å auf. Diese Werte stimmen sehr gut mit den in vorangegangenen Publikationen der entsprechenden Perchlorate von HE *et al.*^[58] und NISHIGA *et al.*^[74] überein.

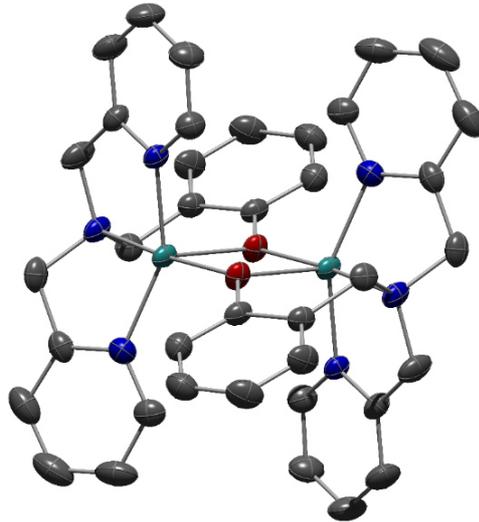


Abbildung 4.9: Kristallstruktur von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$. Die Wasserstoffatome wurden für eine verbesserte Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, O: rot, Cu: türkis.^[67]

Das UV/Vis-Spektrum von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ weist eine schwache Ligand-Metall-Charge-Transfer-Absorptionsbande (LMCT) bei 442 nm ($\epsilon = 275 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) und eine breite d-d Bande bei $>800 \text{ nm}$ auf (Abbildung 4.10). Durch oxidative Spaltung mittels Cer(IV)ammoniumnitrat bei Raumtemperatur, konnte eine deutliche Änderung im UV/Vis-Spektrum beobachtet werden. Es bildete sich eine intensive Absorptionsbande bei 423 nm ($\epsilon = 7600 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) aus, die einem $\pi-\pi^*$ -Übergang zugeordnet wurde. Gleichzeitig fand eine Abnahme der d-d-Bande bei 442 nm statt und eine neue, schwache Absorptionsbande bei 582 nm ($\epsilon = 600 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) konnte beobachtet werden, die einem Phenoxy zu Kupfer Charge-Transfer-Übergang zugeordnet wurde.

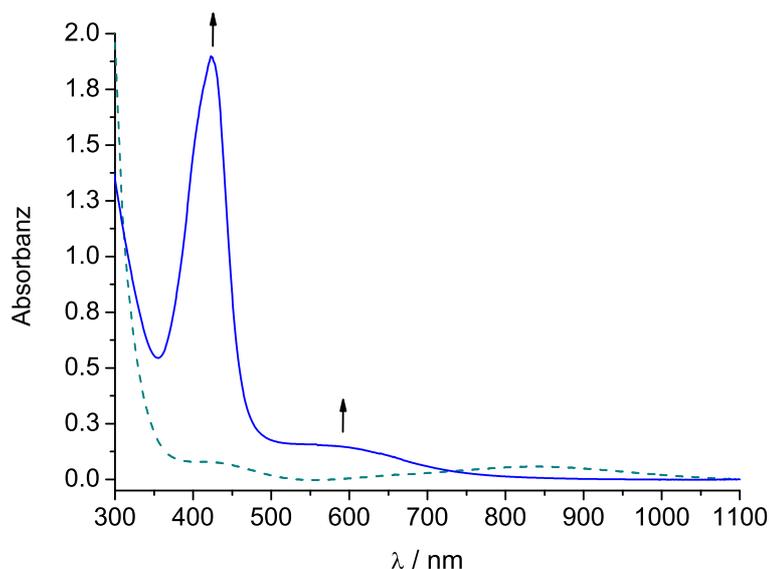


Abbildung 4.10: Grün: UV/Vis-Absorptionsspektrum einer 250 μM Lösung von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ in Acetonitril. Blau: UV/Vis-Absorptionsspektrum einer 250 μM Lösung von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]\text{X}_2$ ($\text{X} = \text{PF}_6^-, \text{NO}_3^-$) in Acetonitril bei 25 $^\circ\text{C}$ nach Zugabe einer äquimolaren Menge CAN. Die Pfeile weisen auf die spektroskopischen Änderungen nach Zugabe von CAN hin (Schichtdicke: $l = 1$ cm).

Dieses Ergebnis steht in guter Übereinstimmung mit dem der aktiven Form des natürlichen Systems. Die Galactose Oxidase, exprimiert aus *Dactylium Dendroides*, weist in der aktiven Form eine intensive Absorptionsbande bei 444 nm ($\epsilon = 5194 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) auf. Die zweite, schwächere Absorptionsbande, ist mit 800 nm ($\epsilon = 3211 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) mehr in den NIR-Bereich verschoben als in dem hier besprochenen Fall.^[75]

Vergleicht man die erhaltenen Ergebnisse mit dem sehr ähnlichen System $[\text{Cu}(\text{II})(\text{1}\cdot)(\text{NO}_3)]^+$ von FUKUZUMI und Mitarbeitern, fällt auf, dass sowohl die Lage der Absorptionsbande als auch die Intensitäten des Phenoxyradikal-Komplexes von dem des $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]\text{X}_2$ -Komplexes ($\text{X} = \text{PF}_6^-, \text{NO}_3^-$) abweichen. Das UV/Vis-Spektrum des $[\text{Cu}(\text{II})(\text{1}\cdot)(\text{NO}_3)]^+$ -Komplexes weist eine maximale Absorptionsbande bei 415 nm ($\epsilon = 1790 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) und eine schwache Absorptionsbande bei 867 nm ($\epsilon = 550 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) auf. Demnach bilden sowohl die natürliche Galactose Oxidase als auch das aktive Modellsystem mit dem Thioether-Substituenten eine breite Bande ≥ 800 nm. Der Phenoxyradikal-Komplex $[\text{Cu}(\text{II})(\text{2}\cdot)(\text{NO}_3)]^+$ mit dem *tert*-Butyl-Substituenten in 3-Position zeigt ebenfalls keine charakteristische Absorptionsbande ≥ 800 nm, was auch bei zuvor publizierten Modellsystemen beobachtet wurde.^[27, 29, 45-48, 76]

Folglich wurde die Absorptionsbande einem intermolekularem Charge-Transfer-Übergang vom Benzolring zur Thioethergruppe in die Phenoxyradikal-Einheit zugeordnet.^[77]

Nachdem gezeigt werden konnte, dass eine unabhängige Bildung des Phenoxyradikal-Komplexes erfolgreich war, wurde zusätzlich versucht, diesen Radikalkomplex aus dem mononuklearen Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$, durch Zugabe einer äquimolaren Menge CAN, zu erzeugen (Abbildung 4.11).

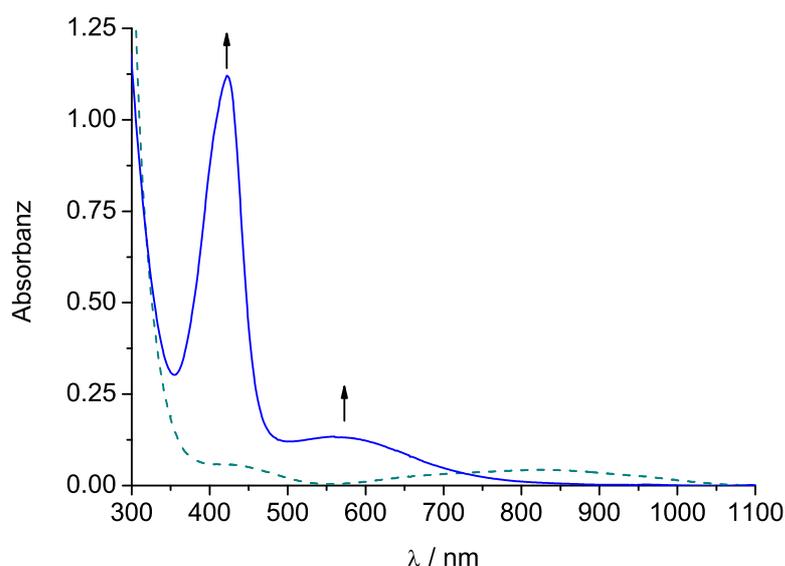


Abbildung 4.11: Grün: UV/Vis-Absorptionsspektrum einer $250 \mu\text{M}$ Lösung von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ in Acetonitril. Blau: UV/Vis-Absorptionsspektrum einer $250 \mu\text{M}$ Lösung von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]\text{X}_2$ ($\text{X} = \text{PF}_6^-$, NO_3^-) in Acetonitril bei 25°C nach Zugabe einer äquimolaren Menge CAN. Die Pfeile weisen auf die spektroskopischen Änderungen nach Zugabe von CAN hin (Schichtdicke: $l = 1 \text{ cm}$).

Die Positionen der beobachteten Absorptionsbanden bei 423 nm und 582 nm sind identisch mit dem Phenoxyradikal-Komplex, der aus dem Dimer generiert wurde.

Eine weitere Möglichkeit stellt die Spaltung des Dimers durch Zugabe von Pyridin dar.^[78] Zu diesem Zweck wurde eine $250 \mu\text{M}$ Lösung von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ in Acetonitril hergestellt und die grüne Lösung langsam mit Pyridin (4 Äq.) versetzt. Die Zugabe von Pyridin führte auch in diesem Fall zu einer drastischen Veränderung des UV/Vis-Spektrums (Abbildung 4.12). Zusätzlich konnte eine deutliche Farbänderung von grün nach dunkelrot beobachtet werden. Anhand der UV/Vis-Spektren, konnte durch Zugabe von Pyridin zunächst eine Abnahme der schwachen LMCT Bande bei 442 nm beobachtet

werden, welche sich zeitgleich zu 485 nm ($\epsilon = 1388 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) verschiebt. Diese Beobachtung ist charakteristisch für die Koordination von Pyridin.^[79] Nach ca. 40 min wurde eine weitere Veränderung des Spektrums sichtbar. Eine intensive Absorptionsbande bei 405 nm ($\epsilon = 7330 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) bildete sich zusammen mit einer schwachen Absorptionsbande bei 501 nm ($\epsilon = 706 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) aus. Somit konnte die Generierung des Phenoxyradikals ($[\text{Cu}_2(\text{L6}\cdot)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})](\text{PF}_6)_2$) durch die Spaltung von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ mit Pyridin in Acetonitril bewiesen werden.

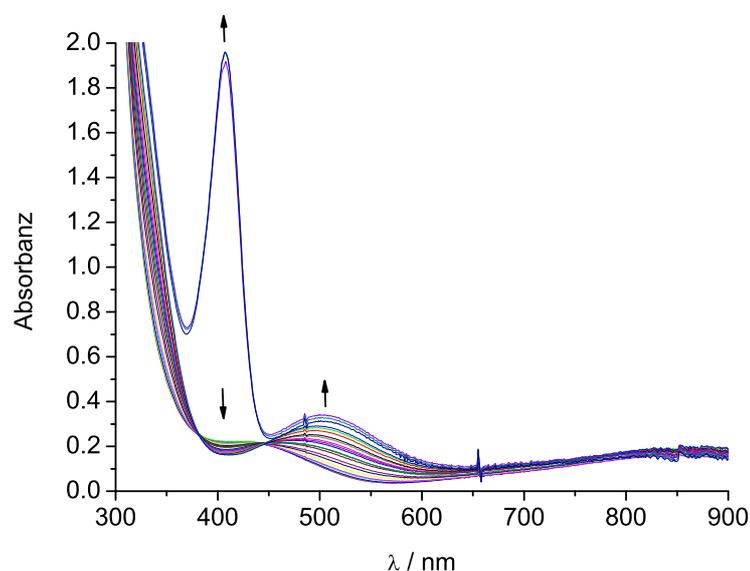


Abbildung 4.12: UV/Vis-Absorptionsspektren der Titration einer 250 µM Lösung von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ in Acetonitril bei 25 °C mit Pyridin. Die Pfeile weisen auf die spektroskopischen Änderungen während der Zugabe von Pyridin hin (Schichtdicke: $l = 1 \text{ cm}$).

Abbildung 4.13 verdeutlicht noch einmal die unterschiedlichen Absorptionsspektren der drei Spezies $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ (grün), $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})](\text{PF}_6)_2$ (violett), $[\text{Cu}_2(\text{L6}\cdot)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})](\text{PF}_6)_2$ (blau).

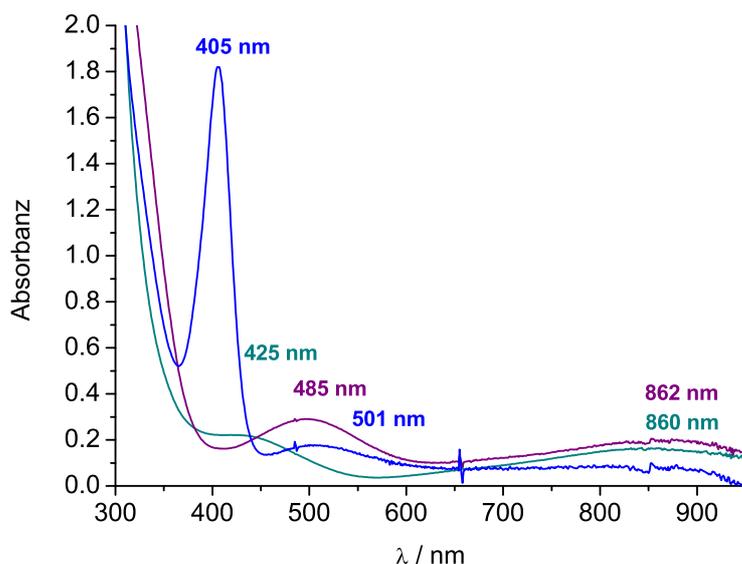


Abbildung 4.13: Übersichtliche Darstellung der unterschiedlichen Spezies, die während der Titration von $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ mit Pyridin entstehen. Grün: $[\text{Cu}_2(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$; violett: $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6})(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})]\text{PF}_6$; blau: $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})]\text{PF}_6$ (Schichtdicke: $l = 1 \text{ cm}$).

Ausgehend von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{L6})]\text{PF}_6$ wurde ein weiterer Versuch unternommen das Phenoxyradikal zu erzeugen. Hierfür wurde eine $250 \mu\text{M}$ Lösung von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{L6})]\text{PF}_6$ in Acetonitril hergestellt und mit Pyridin in Anwesenheit von molekularem Sauerstoff titriert. In diesem Fall konnte keine intensive Absorptionsbande des Phenoxyradikals beobachtet werden.

Somit konnte auf unterschiedliche Weise ein stabiler Phenoxyradikal-Komplex, für das in dieser Arbeit untersuchte Modellsystem der Galactose Oxidase, nachgewiesen werden. Eine übersichtliche Darstellung der einzelnen Methoden für die Bildung von $\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)$ ist in Abbildung 4.14 gezeigt.

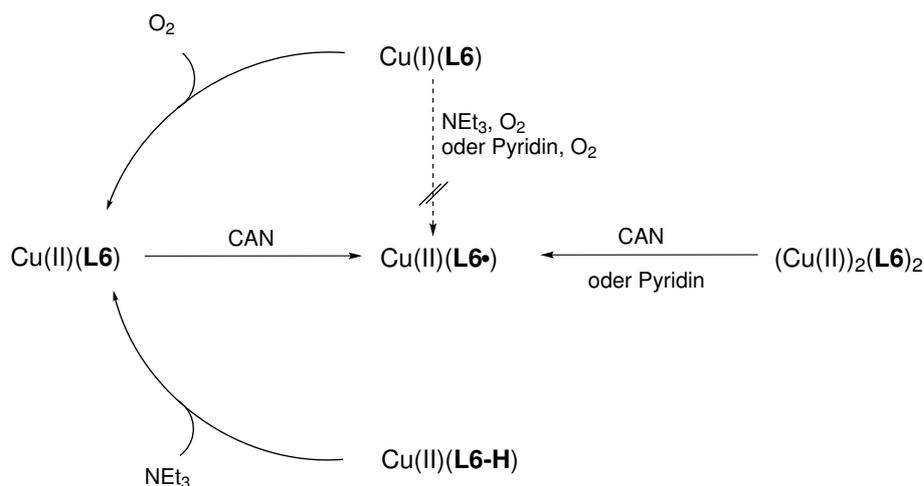


Abbildung 4.14: Überblick über die unterschiedlichen Methoden der Erzeugung von Cu(II)(L6•). Die Gegenionen und die koordinierenden Lösungsmittelmoleküle wurden für eine bessere Übersichtlichkeit nicht mit abgebildet.

Ausgehend von dem für die katalytische Oxidations-Reaktion eingesetzten Kupfer(I)-Komplex Cu(I)(L6), konnte durch Zugabe von Sauerstoff der entsprechende Kupfer(II)-Komplex Cu(II)(L6) erzeugt werden, der wiederum durch Zugabe von CAN in den Radikal-Komplex Cu(II)(L6•) überführt wurde. Eine direkte Umwandlung des Cu(I)(L6) in den Radikalkomplex Cu(II)(L6•), durch Zugabe von Triethylamin und molekularem Sauerstoff oder Pyridin und molekularem Sauerstoff, war nicht erfolgreich, so dass eine Umwandlung über den Kupfer(II)-Komplex erforderlich war.

Cu(II)(L6) ist ebenfalls darstellbar, indem zunächst Cu(II)(L6-H) synthetisiert wurde. Hierfür wurde Kupfer(II)-Perchlorat-hexahydrat in Aceton gelöst und 1 Äq. des Liganden L6-H, gelöst in Acetonitril, hinzugefügt. Anschließend wurde der Kupfer(II)-Komplex mit Ether gefällt. Die Phenol-Funktion des Liganden wurde durch Zugabe von Triethylamin deprotoniert und somit in den Cu(II)(L6)-Komplex überführt. Dieser kann im darauffolgenden Syntheseschritt wieder durch das Einelektronenreduktionsmittel CAN zu dem Cu(II)(L6•)-Radikalkomplex reagieren.

Eine andere Variante für die Darstellung von Cu(II)(L6•) stellt die Spaltung des dimeren Komplexes Cu(II)₂(L6)₂ dar. Es konnte erfolgreich gezeigt werden, dass sowohl die Zugabe von CAN als auch die Titration mit Pyridin zur Ausbildung des Cu(II)(L6•)-Radikalkomplexes führt.

4.4 DFT-Rechnungen von Cu(I)(L6)

In dem natürlichen System der Galactose Oxidase koppelt das Phenoxyradikal antiferromagnetisch mit dem $d_{x^2-y^2}$ -Orbital des Kupfer(II)-Zentrums.^[80, 81] Dieses Intermediat hat einen diamagnetischen Grundzustand ($S = 0$) und weist keine Signale im ESR-Spektrum auf.^[82]

Um für das hier dargestellte Modellsystem der Galactose Oxidase einen näheren Einblick in die relative Orientierung des ungepaarten d-Elektrons des Kupfer(II)-Zentrums und dem einfach besetzten π -Orbital des Phenoxyradikals zu erhalten, wurden DFT-Rechnungen durchgeführt (Abbildung 4.15). Die quantenchemischen Rechnungen wurden mit Gaussian 09 Rev. A.1^[83] durchgeführt. Die Strukturoptimierung erfolgte mit dem Funktional uB3LYP^[84] und dem triple-zeta-Ahrlrichs-Basissatz def2-TZVP^[85]. Die DFT-optimierte Struktur wurde mit dem Programm POV-Ray Version 3.6 gerendert und mit Diamond 3.1 abgebildet.

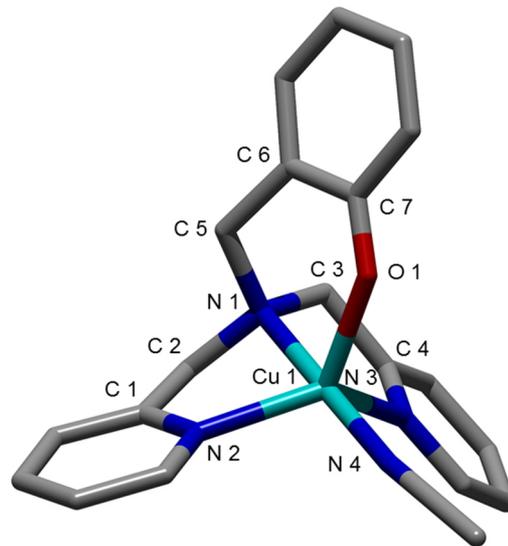


Abbildung 4.15: DFT-optimierte Struktur von $[\text{Cu(II)(L6}\cdot\text{)(CH}_3\text{CN)}]^{2+}$. Die Wasserstoffatome wurden für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, O: rot, Cu: türkis.

Die DFT-optimierte Struktur des $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ Komplexes weist eine verzerrt quadratisch-pyramidale Geometrie mit einer trigonal-bipyramidalen Komponente auf. Ausgewählte Bindungswinkel ($^\circ$) und Bindungslängen (\AA) sind in Tabelle 4.3 aufgeführt.

Tabelle 4.3: Ausgewählte Bindungswinkel ($^\circ$) und Bindungslängen (\AA) von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$.

Cu(1)-N(4)	2.020	Cu(1)-N(2)	2.086
Cu(1)-N(3)	2.085	Cu(1)-O(1)	2.111
Cu(1)-N(1)	2.067	C(7)-O(1)	1.266
N(2)-Cu(1)-N(4)	98.40	N(3)-Cu(1)-O(1)	113.09
N(2)-Cu(1)-N(3)	126.32	N(1)-Cu(1)-O(1)	90.15
N(2)-Cu(1)-N(1)	81.70	Cu(1)-O(1)-C(7)	130.28
N(4)-Cu(1)-N(1)	98.76	N(1)-C(2)-C(1)	34.78
N(2)-Cu(1)-O(1)	117.62	N(1)-C(3)-C(4)	34.64
N(4)-Cu(1)-O(1)	89.19	N(1)-C(5)-C(6)	116.31
N(4)-Cu(1)-N(1)	179.29	N(1)-Cu(1)-N(3)	81.72

In der Literatur werden drei unterschiedliche Fälle diskutiert, die einen Hinweis darauf liefern können, ob der magnetische Grundzustand des Kupfer(II)-Phenoxyradikal-Komplexes $S = 0$ dem $S = 1$ bevorzugt ist.^[53]

Eine quantitative Analyse der relativen Orientierungen der Orbitale des $d_x^2-y^2$ -Orbitals vom Kupfer(II)-Zentrum und dem des halb besetzten π -Orbitals des Phenoxyradikals ergab, für den Fall, dass diese orthogonal zueinander stehen und einen Cu-O-C-Bindungswinkel von $\alpha = 180^\circ$ aufweisen, in Anlehnung an die Goodenough-Kanamori-Regeln für magnetische Austauschwechselwirkungen, eine ferromagnetische Kopplung, die den triplet Grundzustand $S = 1$ stabilisiert (Abbildung 4.16). Dies ist unabhängig von dem dihedralen Winkel β , welcher sich zwischen der x,y-Ebene des Kupfer(II)-Ions und dem Phenylring des Radikalliganden befindet und in diesem Fall Werte von $0-90^\circ$ annehmen kann. Für den Fall, dass der beobachtete Cu-O-C-Bindungswinkel α in dem Bereich zwischen 125° und 135° liegt, bestimmt die Magnitude des dihedralen Winkels β die Multiplizität des elektronischen Grundzustandes. Beträgt $\beta = 0^\circ$, stehen die magnetischen Orbitale wieder orthogonal zueinander und ein triplet Grundzustand mit $S = 1$ wird beobachtet. Weist der dihedrale Winkel allerdings $\beta \sim 90^\circ$ auf, findet eine signifikante Überlappung der Orbitale statt und der singlet Grundzustand $S = 0$ wird bevorzugt. In der nativen Galactose Oxidase

beträgt $\alpha = 129^\circ$ und $\beta \sim 75^\circ$ und führt laut dieser Theorie zu einem singlet Grundzustand ($S = 0$). Bestätigt wurde diese Tatsache u. a. durch ESR-Messungen.^[53]

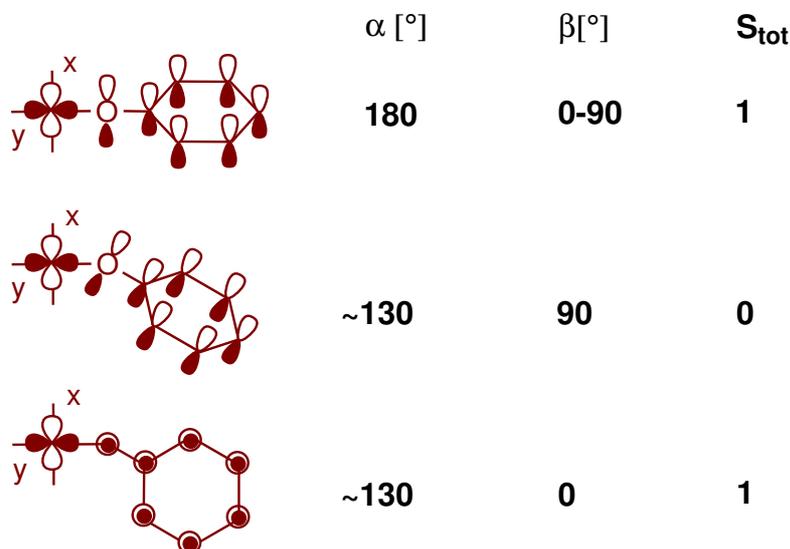


Abbildung 4.16: Relative Orientierung der Cu(II) $d_{x^2-y^2}$ -Orbitale und des einfach besetzte π -Orbitals des Phenoxyradikals und der entsprechenden Grundzustände (S_{tot}). $\alpha = \text{Cu-O-Cu}$ Bindungswinkel, $\beta =$ dihedraler Winkel zwischen der Ebene des Phenylringes und der xy-Ebene des Kupfer(II)-Ions.^[53]

Auf Grundlage der DFT-Rechnung des $[\text{Cu(II)(L6}\cdot\text{)}(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ -Komplexes, können Rückschlüsse auf die Geometrie der entsprechenden Orbitale gezogen werden und somit auch eine Hypothese des möglichen elektronischen Grundzustandes getroffen werden. Aus den Rechnungen geht ein Cu(1)-O(1)-C(7)-Bindungswinkel von $\alpha = 130^\circ$ hervor, welcher der natürlichen Galactose Oxidase sehr ähnlich ist. Der dihedrale Winkel beträgt $\beta \sim 20^\circ$. Dieser weicht deutlich von dem des natürlichen Systems ab und hat, laut der hier vorgestellten Theorie, eine ferromagnetische Kopplung und damit einen triplet Grundzustand zur Folge. Dies könnte eine Erklärung für die geringe katalytische Effizienz des eingesetzten $[\text{Cu(I)(L6)}]\text{PF}_6$ -Komplexes sein.

Die folgende Abbildung 4.17 zeigt ein vereinfachtes Molekül-Orbital Schema (MO Schema) der höchsten besetzten Molekül-Orbitale (HOMO; highest occupied molecule orbital) und der niedrigsten unbesetzten Molekül-Orbitale (LUMO; lowest unoccupied molecule orbital) der α - und β -Spin Orbitale. Es ist offensichtlich, dass das höchste besetzte d-Orbital des α -Spins (103a) ein zugehöriges unbesetztes β -Orbital (106b) besitzt, welches

aus der entsprechenden d^9 -Konfiguration des Kupfer(II)-Zentrums stammt. Bei noch höherer Energie, als das einfach besetzte Molekül-Orbital (SOMO; single occupied molecule orbital) des Metallzentrums 103a, befindet sich das einfach besetzte Phenoxyradikal-Orbital 106a. Das dazugehörige β -Orbital 105b befindet sich in einer Vielzahl von unbesetzten Orbitalen. Zwischen den Orbitalen 103a und 106a befinden sich Orbitale, die einen Pyridinligand-Charakter aufweisen und ein Gegenstück in der Vielzahl der besetzten β -Orbitale haben. Abbildung 4.17 zeigt den α - und β -Spin der Kupfer(II) d-Orbitale und ausgewählte Orbitale des Liganden $L6^\bullet$.

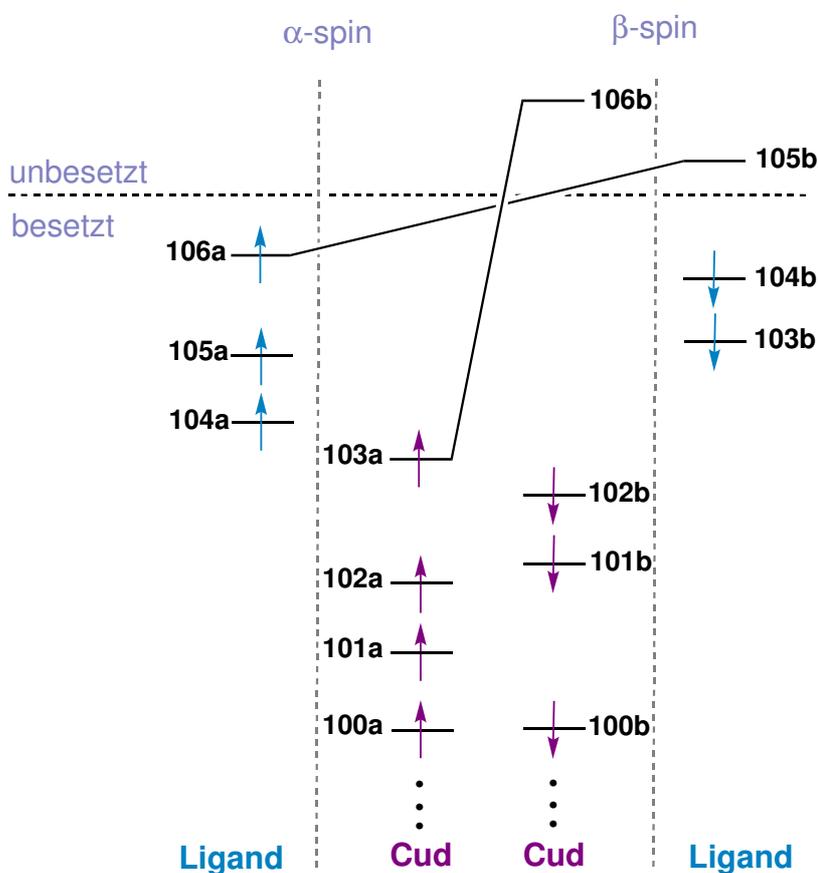


Abbildung 4.17: Schematische Darstellung der Besetzung der α - und β -Spins der Kupfer(II) d-Orbitale und der Besetzung der Ligand-Orbitale.

Nachfolgend sind die relevanten Molekülorbitale des Kupfer(II)-Zentrums und die des Phenoxyradikals ($L6^\bullet$) dargestellt (Abbildung 4.18)

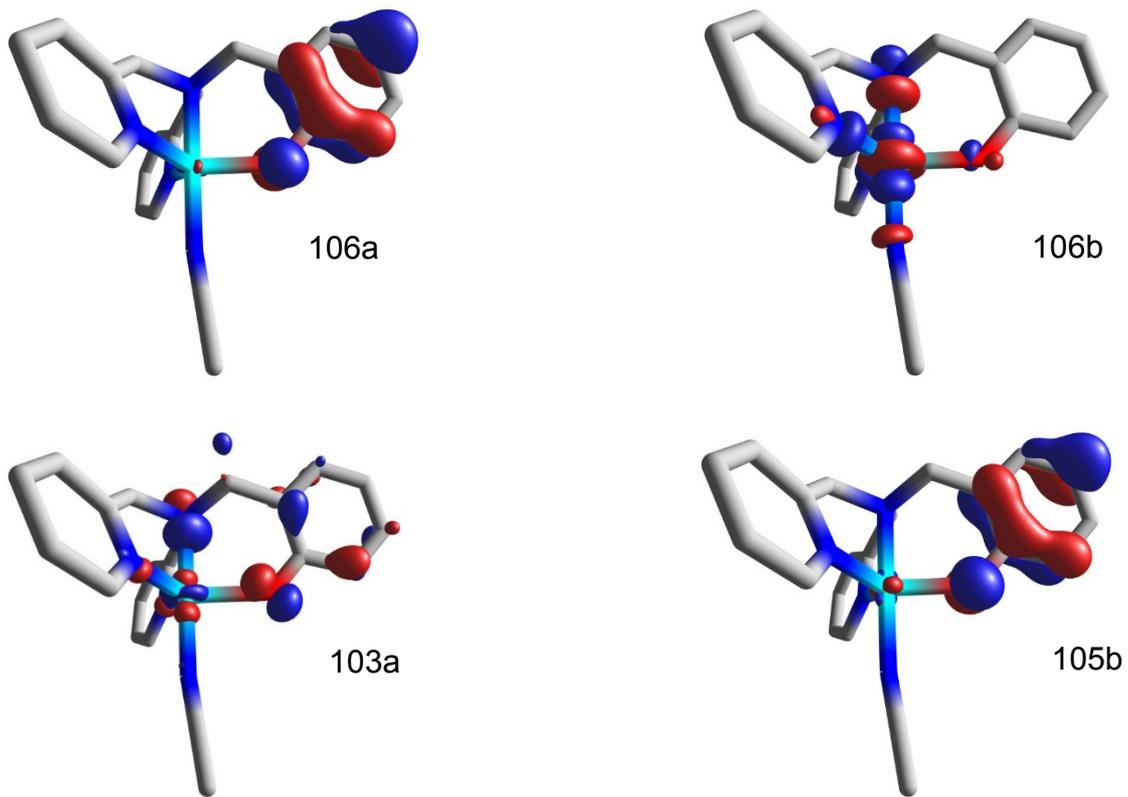


Abbildung 4.18: Ausgewählte Molekül-Orbitale. Abgebildet ist das SOMO 106a des Liganden, das einfach besetzte Kupfer(II) d-Orbital 103a und ihre entsprechenden unbesetzten β -Orbitale 105b sowie 106b.

5 Zusammenfassung der Ergebnisse aus Teil I

In dieser Arbeit ist es gelungen, den Liganden *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)amin (**L6-H**) sowie den Komplex $[\text{Cu(I)L6}(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ durch Umsetzung von **L6-H** mit Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat in hoher Reinheit zu reproduzieren.

Die Untersuchung der Galactose Oxidase-Aktivität von $[\text{Cu(I)L6}(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ erfolgte durch aerobe Oxidation von Ethanol zu Acetaldehyd. Aufgrund des hohen Dampfdrucks des Oxidationsproduktes, wurde für die quantitative Bestimmung eine Derivatisierung mittels MBTH und Eisen(III)chlorid verfolgt. Diese ermöglichte eine UV/Vis-spektroskopische Verfolgung der Produktbildung während der Katalyse anhand zwei charakteristischer Absorptionsbanden bei 622 nm und 661 nm.

Die Problematik der Katalyse bestand darin, dass nach Einleiten von Sauerstoff in die Reaktionslösung eine Grünfärbung der Lösung beobachtet, jedoch keine katalytische Aktivität verzeichnet wurde. Es konnte gezeigt werden, dass ein wiederholtes Lösen des gelben $[\text{Cu(I)L6}(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ -Komplexes zur Ausbildung einer grünen Kupfer(II)-Spezies führt, welche keine katalytische Aktivität aufweist. Eine Isolierung dieser Komponente war nicht erfolgreich.

Vor diesem Hintergrund konnte eindrucksvoll gezeigt werden, dass durch *in-situ* Generierung des $[\text{Cu(I)L6}(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ -Komplexes in wenig Acetonitril und anschließendes Zufügen von Ethanol und Einleiten von Sauerstoff in das Reaktionsgemisch, eine katalytische Aktivität des Modellsystems erzielt werden kann (Abbildung 5.1). Folglich konnte eine maximale *turnover number* von 74 nach 23 h ermittelt werden.

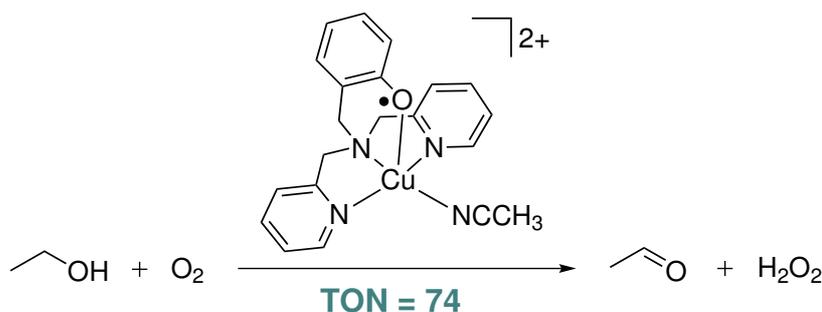


Abbildung 5.1: Aerobe Umsetzung von Ethanol zu Acetaldehyd mittels $[\text{Cu(II)}(\text{L6})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$.

Um den mechanistischen Zyklus der Galactose Oxidase auch für das hier synthetisierte Modellsystem zu überprüfen, wurde zunächst versucht, das Phenoxyradikal während der Katalyse bei tiefen Temperaturen UV/Vis-spektroskopisch zu detektieren. Da dies nicht erfolgreich war, wurde versucht, das Phenoxyradikal durch Zugabe von Triethylamin bzw. Pyridin zu erzeugen. Allerdings wurde in beiden Fällen ausschließlich ein Kupfer(II)-Komplex gefunden.

Basierend auf literaturbekannten Methoden, ist es gelungen, den Kupfer(II)-Phenoxyradikal-Komplex $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ durch oxidative Spaltung des zuvor synthetisierten Dimers $[\text{Cu}_2(\text{II})(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$ mit CAN bzw. Titration mit Pyridin zu generieren. Die spektroskopischen Merkmale des hier erzeugten Phenoxyradikal-Komplexes stimmten gut mit denen des nativen Enzyms überein.^[75] Ausgehend von dem deprotonierten monomeren Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$, konnte eine weitere Variante für die Bildung des Phenoxyradikal-Komplexes ausgearbeitet werden. Durch Reaktion von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ mit dem Einelektronen-Oxidationsmittel CAN wurde analog zur Spaltung des Dimeren Komplexes ($[\text{Cu}_2(\text{II})(\text{L6})_2](\text{PF}_6)_2$) der gewünschte $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L6}\cdot)(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ -Komplex erhalten. Somit ist es zwar nicht gelungen, den entsprechenden Phenoxyradikal-Komplex während der Katalyse zu detektieren, jedoch konnte demonstriert werden, dass die Bildung eines stabilen Phenoxyradikals möglich ist, was wiederum den Hinweis liefert, dass die Zweielektronen-Oxidation von Ethanol zu Acetaldehyd nach dem Mechanismus der natürlichen Galactose Oxidase verlaufen kann.

Allerdings ist auffällig, dass die katalytische Effizienz, trotz *in-situ* Generierung des hier untersuchten Galactose Oxidase-Modellsystems, im Vergleich zu zuvor publizierten Modellsystemen gering ist. Angesichts dieser Tatsache wurden, ergänzend zu den spektroskopischen Untersuchungen, DTF-Rechnungen durchgeführt, um eine Aussage über den magnetischen Grundzustand des Systems treffen zu können. Die relative Orientierung des ungepaarten d-Elektrons des Kupfer(II)-Zentrums und des einfach besetzten π -Orbitals des Phenoxyradikals weisen auf eine ferromagnetische Kopplung hin ($S = 1$). Dies steht im Gegensatz zu der antiferromagnetischen Kopplung in der nativen Galactose Oxidase und stellt somit möglicherweise einen Grund für die geringe Umsatzrate dar.

Teil II

Synthese und Untersuchungen Imidazol-basierter Kupfer(I)-Komplexe als Modellsysteme der Catechol Oxidase und der Tyrosinase

6 Kupfer Typ 3 Enzyme: Struktur, Reaktivität und Modellsysteme

Die wichtigsten Vertreter der Kupfer Typ 3 Enzyme (Hämocyanin, Catechol Oxidase und Tyrosinase) stellen die Grundlage der in dieser Arbeit entwickelten und untersuchten Modellsysteme dar und werden aufgrund ihres hohen Stellenwertes in biologischen Systemen im Folgenden näher erläutert.

6.1 Hämocyanin

Hämocyanin gehört neben den eisenhaltigen Proteinen Hämoglobin und Hämeritrin zu der Klasse der Sauerstofftransportproteine. Neben der Sauerstoffbindung und dem Sauerstofftransport ist das Hämocyanin auch am Transport von Metallionen und deren Metabolismus beteiligt und kann in seltenen Fällen unter bestimmten Bedingungen die Funktion einer Phenoloxidase einnehmen, was unter anderem für die Celiteratspezies *Eurypelma californicum* und *Pandinus imperator* gezeigt werden konnte.^[86, 87, 88]

Hämocyanin ist in den Hämolyphen von zahlreichen Arthropoden wie beispielsweise Crustaceen, Myriapoden, Celiceraten und Insekten vertreten. Des Weiteren kommen sie in Schnecken, Muscheln und Tintenfischen, den sogenannten Mollusken, vor.^[89, 90, 91] Wie in Abbildung 6.1 schematisch gezeigt, unterscheiden sich Arthropoden- und Mollusken-Hämocyanin signifikant in ihrer Quartärstruktur. Arthropoden Hämocyanin besteht aus einem einzelnen Hexamer oder dessen Vielfachen (2x6mer, 4x6mer, 6x6mer, 8x6mer). Jeder dieser sechs Untereinheiten, welche jeweils eine Molekülmasse von ca. 72 kDa aufweisen, kann nochmals in drei Domänen differenziert werden. Die *N*-terminale Domäne I ist aus fünf oder sechs α -Helices aufgebaut und bietet einen Schutz für das aktive Zentrum. Dieses befindet sich in der Domäne II und weist ein dinukleares Kupfer-Zentrum auf, welches von je drei Histidinresten koordiniert ist und dessen Lage durch vier α -Helices stabilisiert wird. Die *C*-terminale Domäne II besteht aus einem siebensträngigen antiparallelen β -Faltblatt. Im Gegensatz zu dem Arthropoden Hämocyanin bildet das Mollusken Hämocyanin zylindrische Decamere, welche wiederum aus sieben oder acht funktionellen Einheiten bestehen. Diese funktionellen Einheiten können nochmals in eine α - und eine β -Domäne unterteilt werden, wobei die Funktion der α -Domäne vergleichbar

ist mit der Funktion der Domäne II des Arthropoden-Hämocyanins und die Eigenschaften der β -Domäne denen der Domäne III des Arthropoden-Hämocyanins entsprechen.^[86, 92, 93]

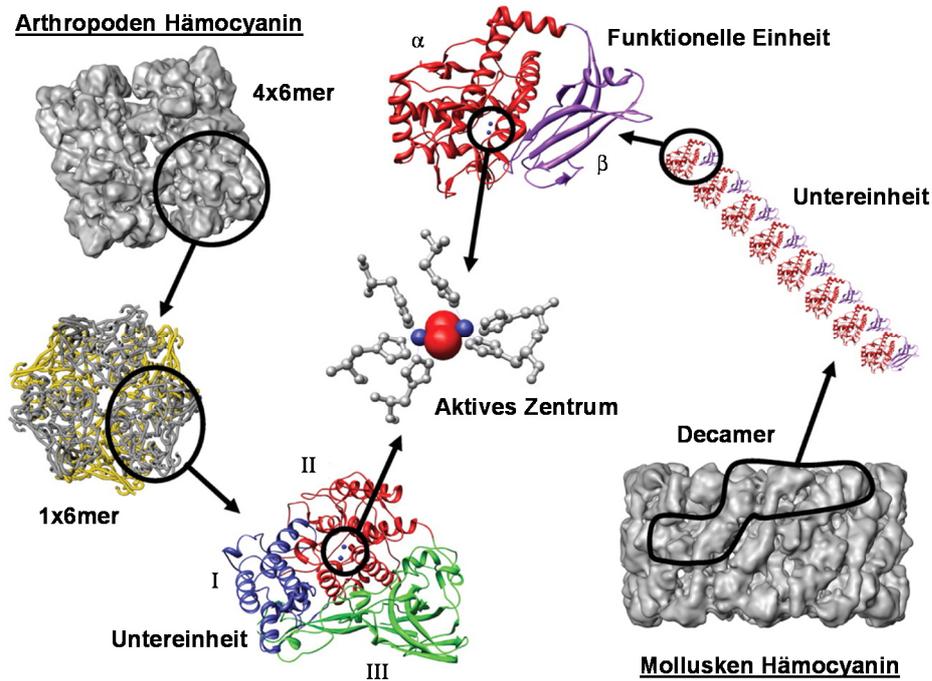


Abbildung 6.1: Strukturelle Unterschiede von Arthropoden- und Mollusken-Hämocyanin.^[86]

Hämocyanin zeichnet sich durch eine kooperative Sauerstoffbindung aus, welche durch eine Vielzahl an Effektoren (regulatorisch wirksame Moleküle) beeinflusst werden kann.^[86, 94] In der *desoxy*-Form liegen die beiden mononuklearen Kupfer-Ionen in der reduzierten Form vor (Abbildung 6.2). Durch Sauerstoffaufnahme erweitert sich die Koordinationssphäre und die oxidierten Kupfer(II)-Ionen bilden ein sauerstoffverbrücktes dinukleares Zentrum in einer $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Geometrie. In dieser sogenannten *oxy*-Form weist jedes Kupfer(II)-Zentrum eine quadratisch-pyramidale Umgebung auf. Charakteristisch für die *oxy*-Form ist die blaue Farbe während *desoxy*-Hämocyanin farblos ist.^[3]

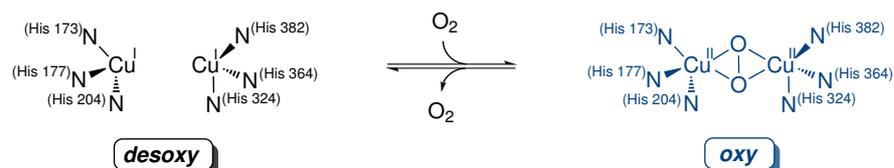


Abbildung 6.2: Schematische Darstellung der reversiblen Sauerstoffbindung des aktiven Zentrums von *Limulus-poyphemus*-Hämocyanin.^[93]

6.2 Die Polyphenoloxidasen Tyrosinase und Catechol Oxidase

Die Tyrosinase ist ubiquitär in nahezu allen Organismen, wie beispielsweise Bakterien, Pflanzen, Pilzen, Insekten und Säugetieren vertreten, während die Catechol Oxidase überwiegend in Pflanzen und Pilzen vorkommt.^[92] Neben der Laccase, auf die hier nicht näher eingegangen wird, zählt die Tyrosinase ebenso wie die Catechol Oxidase zu der Klasse der Polyphenoloxidasen (PPO), deren Aufgabe in der Synthese hoch reaktiver *ortho*-Chinone besteht (Abbildung 6.3).^[95]

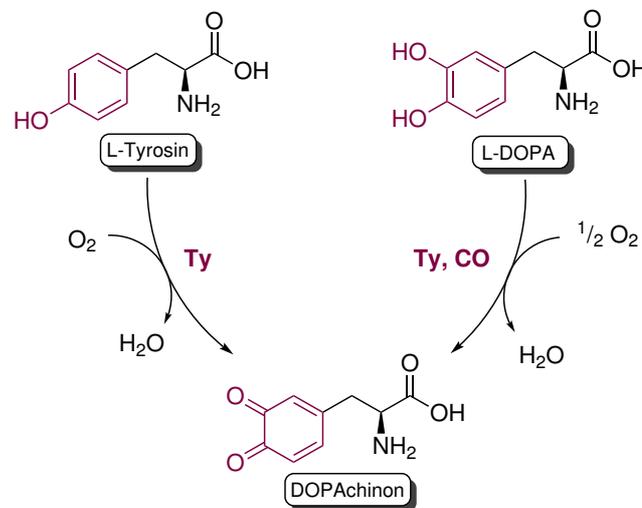


Abbildung 6.3: Reaktivität der Tyrosinase (Ty) und der Catechol Oxidase (CO).

Ausgehend von dem Monophenol L-Tyrosin katalysiert die Tyrosinase im ersten Reaktionsschritt die Hydroxylierung in *ortho*-Position zu dem Catechol 3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) und anschließend die Zweielektronen-Oxidation von L-DOPA zu DOPAchion (4-(2-Carboxy-2-aminoethyl)-1,2-benzochinon). Die Synthese des Hydroxylierungsproduktes wird hierbei als Monophenolase-Aktivität, die Zweielektronen-Oxidation des Catechols als Diphenolase-Aktivität bezeichnet, wobei sich die Bezeichnungen der Enzymaktivität auf die umgesetzten Substrate beziehen.^[96] Im Gegensatz zu der Tyrosinase weist die Catechol Oxidase nur eine Diphenolase-Aktivität auf. Neben der Synthese von DOPAchion sind die Tyrosinase und die Catechol Oxidase in der Lage, eine Reihe weiterer Monophenole bzw. Catechole in die entsprechenden *ortho*-Chinone zu überführen. Die hier beschriebene Tyrosinase vermittelte Darstellung

von DOPachinon stellt den Schlüsselschritt der Melaninbiosynthese dar und wird aufgrund ihrer hohen Relevanz für viele Organismen im Folgenden näher erläutert.^[11, 12, 93]

6.2.1 Melaninbiosynthese

Der Name Melanin leitet sich von dem griechischen Wort „melanos“ ab, was so viel wie „schwarz“ bedeutet. Das Melanin ist größtenteils ein aus Indolen aufgebautes Polymer, welches in zahlreichen Organismen, wie Tieren, Bakterien, Pflanzen und Pilzen vorzufinden ist.^[97] Die Hauptaufgabe dieses heterogenen polyphenolischen Biopolymers besteht in der Absorption schädlicher UV-Strahlung und schützt somit vor irreversiblen Zell- und Gewebeschädigungen. Neben der Pigmentierung von Haut, Haaren und Iris bei Säugetieren nimmt die Melaninsynthese zum Wundverschluss bei Invertebraten einen besonderen Stellenwert ein.^[98, 99] Ferner besitzt es chemoprotektive Eigenschaften gegenüber Phagozytose, enzymatischer Hydrolyse, freien Radikalen und Hitze.^[100]

Allgemein kann die Klasse der natürlichen Pigmente in das braune bis schwarze Eumelanin, das schwefelhaltige gelbe bis rote Phäomelanin sowie das schwarze Allomelanin, welches ausschließlich in Bakterien, Pflanzen und Pilzen vorkommt, differenziert werden. Abbildung 6.4 zeigt beispielhaft einen Ausschnitt von Eumelanin und Phäomelanin.^[12, 101, 102]

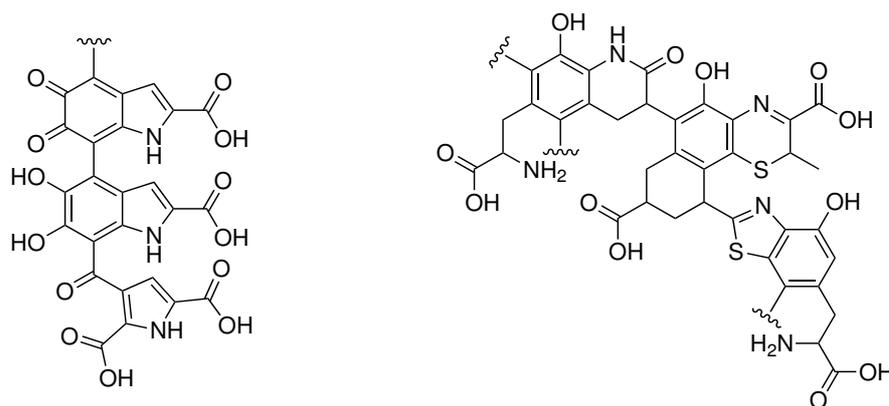


Abbildung 6.4: Strukturausschnitte des Eumelanins (links) und des Phäomelanins (rechts).^[103]

Die Biosynthese des Melanins wird auch als Melanogenese bezeichnet und findet bei Säugetieren unter anderem in den Pigmentzellen, den so genannten Melanozyten, der

Basalschicht der Epidermis statt. Der Mechanismus wurde maßgeblich von Raper, Mason und Lerner aufgeklärt und unterliegt einer Einteilung in proximale und distale Phasen.^[104, 105, 106] Die Biogenese von Melanin beginnt ausgehend von der Aminosäure L-Tyrosin, wobei das Enzym Tyrosinase die ersten beiden Schritte der proximalen Phase katalysiert (Abbildung 6.5).

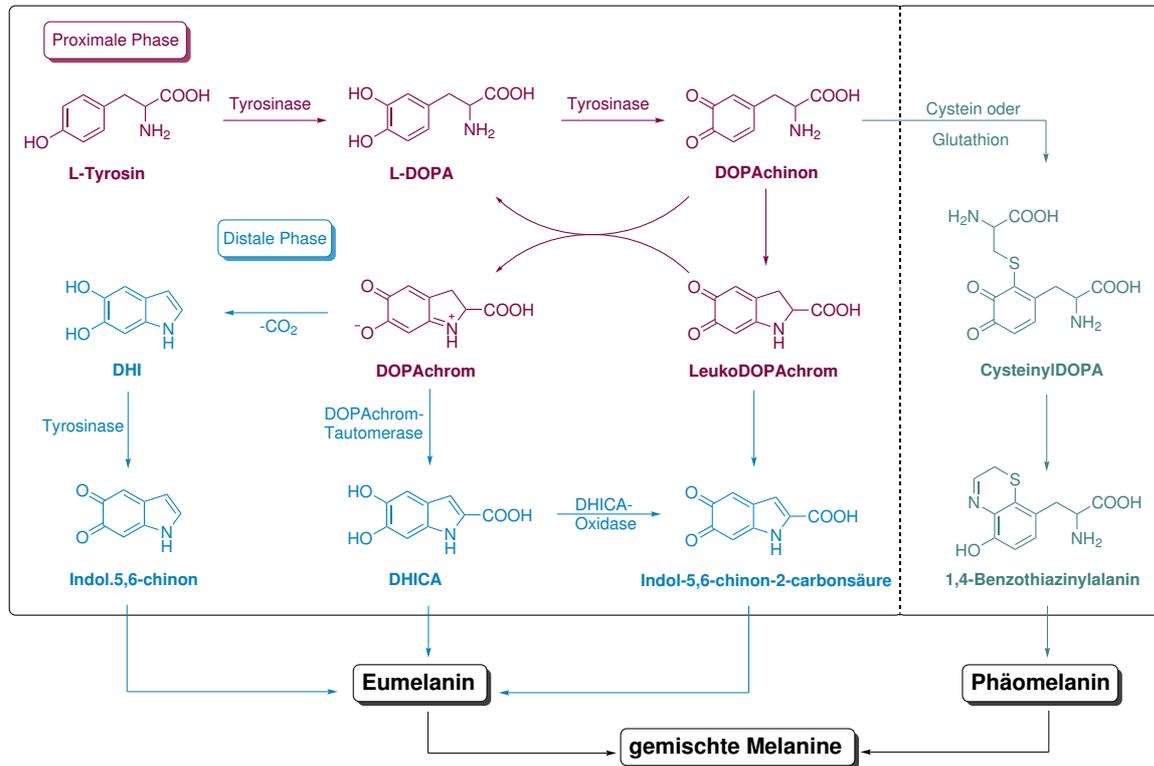


Abbildung 6.5: Biosynthese von Eumelanin und Phäomelanin.^[102]

Durch Hydroxylierung von L-Tyrosin zu 3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa) und anschließender Zweielektronen-Oxidation wird das *ortho*-Chinon DOPACHINON erhalten. Diese Reaktionsfolge stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Melanogenese dar.^[107] Das hoch reaktive DOPACHINON kann an dieser Stelle auf zwei unterschiedliche Weisen weiterreagieren und so die Differenzierung von Eumelanin und Phäomelanin begründen. Weiterhin kann eine spontane Polymerisation zu diesem Zeitpunkt eine unerwünschte Hyperpigmentierung zur Folge haben.^[108]

Beginnend mit der Eumelanogenese wird durch eine 1,4-Addition der Aminogruppe der Seitenkette des DOPACHINONS eine Zyklisierung erzielt und zunächst das instabile LeukoDOPACHROM gebildet, welches anschließend autokatalytisch zum DOPACHROM, ein

Indolen-2-carbonsäure-5,6-Chinon, oxidiert wird. Das DOPAchrom stellt das Endprodukt der proximalen Phase dar. In der darauffolgenden distalen Phase kann das DOPAchrom auf zwei unterschiedliche Weisen zum Eumelanin reagieren, was sich auf die Farbgebung des resultierenden Pigmentes auswirkt. Das sogenannte „DHICA-Melanin“, welches sich durch ein mittleres Molekulargewicht und einer gelb/braunen Farbe auszeichnet, wird durch die DOPAchrom-Tautomerase vermittelte Umsetzung von DOPAchrom zu 5,6-Dihydroxyindol-2-carbonsäure (DHICA) erhalten. Dieses Zwischenprodukt wird im Anschluss enzymatisch zu der Indol-5,6-chinon-2-carbonsäure oxidiert, welche im darauffolgenden Schritt zum gelb/braunen Eumelanin polymerisiert. Bei der Biosynthese des sogenannten „DHI-Melanins“, einem Eumelanin mit hohem Molekulargewicht und schwarzer Färbung, findet zunächst eine Decarboxylierung des DOPAchroms zum 5,6-Dihydroxyindol (DHI) statt. Durch die Tyrosinase vermittelte Oxidation von DHI geht Indol-5,6-Chinon hervor, welches daraufhin zu einem schwarzen Eumelanin polymerisiert.^[97, 102, 109]

Die Phäomelanogenese findet in Anwesenheit der schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein oder Glutathion statt, dessen Thiol-Einheit nukleophil an das DOPAchinon angreift und CysteinylDOPA bzw. GlutathionDOPA generiert. Hierbei kann der nukleophile Angriff der Thiol-Einheit an unterschiedlichen Positionen des Aromaten stattfinden, wobei die 5-Position in der Regel favorisiert ist. Die anschließende Zyklisierung zu 1,4-Benzothiazinylalanin gefolgt von weiteren nicht enzymatischen Reaktionen liefert das gelb-rote Phäomelanin. Durch Reaktionen einzelner Komponenten des Eumelanins mit denen des Phäomelanins erweitert sich die Mannigfaltigkeit der Pigmente durch die Bildung von „gemischten“ Melaninen.^[102] Neben der Hyperpigmentierung, die durch Überproduktion der Tyrosinase entsteht, kann eine Mutation des Enzyms zu malignen Melanomen führen während die Abwesenheit der Tyrosinase beispielsweise Albinismus zur Folge haben kann.^[102, 110, 111, 112, 113]

6.2.2 Mechanismus der Mono- und Diphenolase-Aktivität

Der erste Katalysezyklus wurde 1985 von SOLOMON *et al.* vorgeschlagen und in den darauffolgenden Jahren nur leicht modifiziert (Abbildung 6.6).^[12, 114]

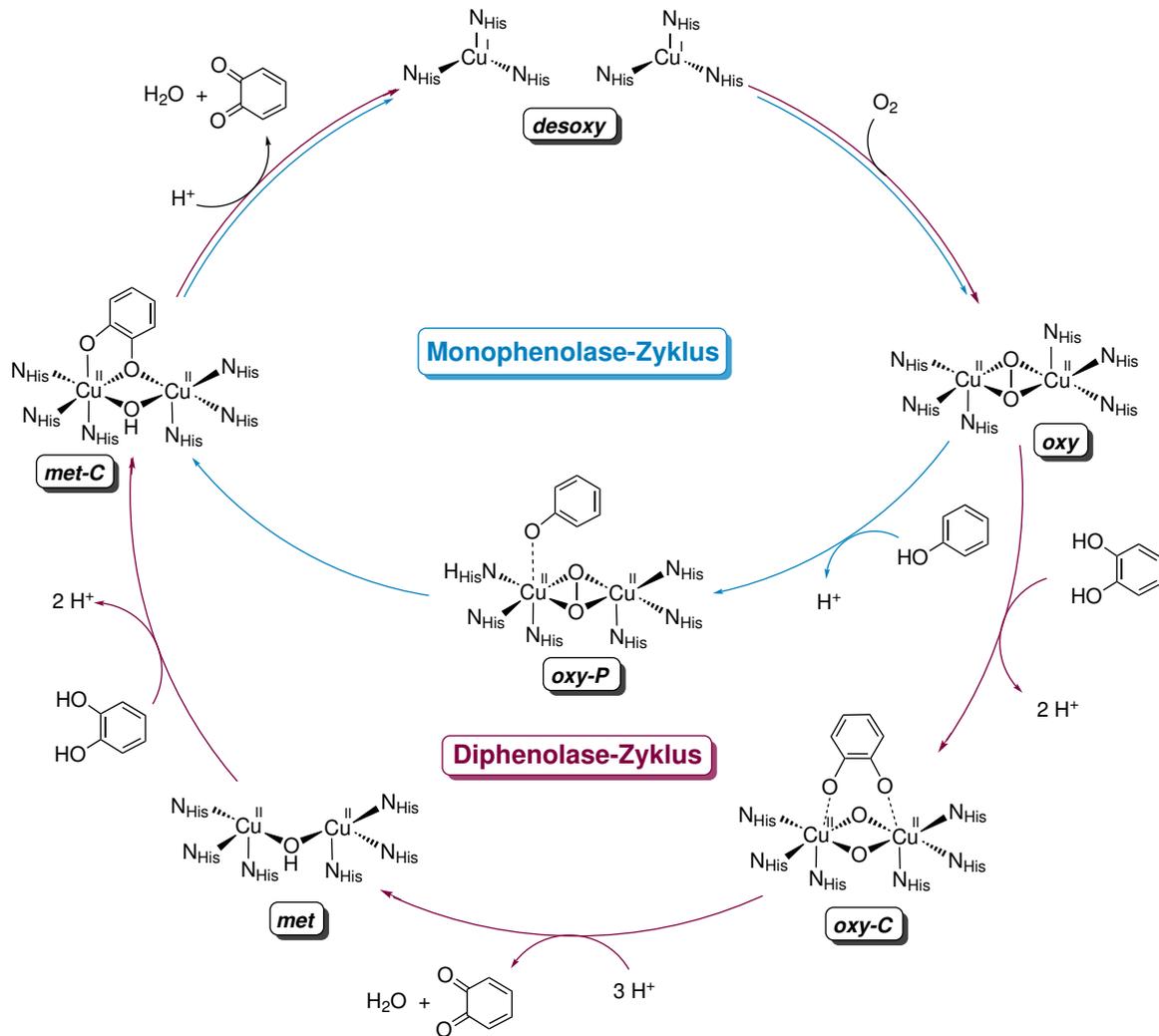


Abbildung 6.6: Reaktionsmechanismus des Monophenolase-Zyklus (blau) der Tyrosinase sowie des Diphenolase-Zyklus (rot), welcher von der Tyrosinase und der Catechol Oxidase durchlaufen wird.

Beginnend mit der reduzierten *desoxy*-Form, wird im ersten Schritt molekularer Sauerstoff als Peroxid in einer side-on verbrückten Geometrie gebunden und beide Kupfer(I)-Ionen oxidiert. Die gebildete *oxy*-Form kann an dieser Stelle, abhängig vom eingesetzten Substrat (Monophenol oder Catechol), auf zwei unterschiedliche Weisen weiterreagieren, was die Differenzierung in Monophenolase- bzw. Diphenolase-Zyklus begründet. Beginnend mit

dem Monophenolase-Zyklus wird das Monophenol durch Abspaltung von einem Proton als Phenolat an eines der Kupfer(II)-Zentren koordiniert (*oxy-P*). Im nächsten Schritt wird die Peroxid-Bindung gespalten und das Monophenol in *ortho*-Position durch einen elektrophilen Angriff hydroxyliert, wobei das resultierende Catecholat verbrückt über beide Metall-Zentren koordiniert vorliegt (*met-C*-Form). Im darauffolgenden Reaktionsschritt findet, unter Regeneration der *desoxy*-Form, die Oxidation des Catecholats und die anschließende Freisetzung von *ortho*-Chinon und Wasser statt.

Im Diphenolase-Zyklus werden unter Verbrauch von einem Molekül O₂ zwei Substrate zum *ortho*-Chinon oxidiert, während der Monophenolase-Zyklus im Gegensatz dazu nur ein *ortho*-Chinon liefert. Die side-on verbrückte *oxy*-Form reagiert mit dem ersten Catechol zur *oxy-C*-Form, bei der das Substrat als Catecholat an beide Kupfer(II)-Zentren koordiniert. Durch eine reduktive Spaltung der Peroxo-Einheit und unter Freisetzung von *ortho*-Chinon resultiert die *met*-Form. Dieses hydroxo-verbrückte Intermediat kann ein weiteres *ortho*-Diphenol oxidieren, wodurch die *desoxy*-Form zurückgewonnen und ein weiteres *ortho*-Chinon freigesetzt wird.

6.2.3 Strukturelle Unterschiede von Tyrosinase und Catechol Oxidase

Um die Funktion von Enzymen besser verstehen und beispielsweise bei Fehlfunktionen eingreifen zu können, ist es von besonderem Interesse sowohl das aktive Zentrum, an dem die Katalyse stattfindet, als auch die komplexe Proteinumgebung zu charakterisieren, da deren Konformation maßgeblich für die Spezifität der Katalyse ist.

Die erste Kristallstruktur der Catechol Oxidase wurde schon 1998 von KREBS *et al.*^[115] aus der Süßkartoffel *Ipomoea batatas* gewonnen (Abbildung 6.7, rechts) und in den letzten Jahren durch eine Reihe weiterer Kristallstrukturen ergänzt, die aus Pflanzen, Früchten und Pilzen isoliert wurden.^[5, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122]

Erst acht Jahre später als die erste Kristallstruktur der Catechol Oxidase, wurde im Jahre 2006 von MATOBA *et al.*^[123] die erste Kristallstruktur der Tyrosinase aus dem Bakterium *Streptomyces castaneoglobisporus* gewonnen (Abbildung 6.7, links). In den darauffolgenden Jahren wurden weitere Kristallstrukturen u. a. aus Insekten, Pilzen und Bakterien veröffentlicht.^[124, 125, 126, 127] Die erste Kristallstruktur einer pflanzlichen

Tyrosinase wurde jedoch erstmals 2015 aus Walnuss-Blättern (*Juglans regia*) isoliert.^[128, 129]

Die aktiven Zentren der Catechol Oxidase und der Tyrosinase weisen keine nennenswerten Unterschiede auf und besitzen in der *desoxy*-Form zwei Kupfer(I)-Zentren (Cu_A , Cu_B), die analog zum Hämocyanin, jeweils von drei Histidinresten umgeben sind und eine verzerrt trigonal-planare Koordinationssphäre aufweisen. In der *oxy*-Form binden sie molekularen Sauerstoff als Peroxid in einer $\mu-\eta^2:\eta^2$ -Geometrie mit einer verzerrt quadratisch-pyramidalen Koordination (Abbildung 6.7).^[11, 12]

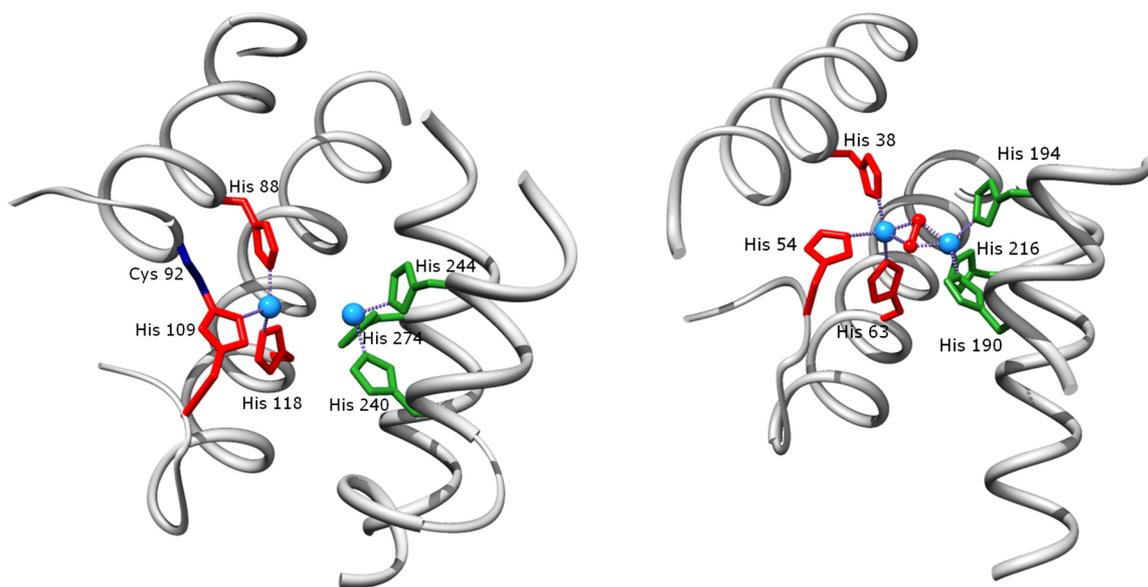


Abbildung 6.7: Links: Kristallstruktur des aktiven Zentrums der Catechol Oxidase in der *desoxy*-Form, isoliert aus der Süßkartoffel *Ipomoea batatas*.^[11, 115] Rechts: Kristallstruktur des aktiven Zentrums der Tyrosinase in der *oxy*-Form, isoliert aus dem Bakterium *Streotomyces castaneoglobisporus*.^[11, 123]

In den letzten Jahrzehnten wurde intensiv an der Begründung der funktionellen Unterschiede zwischen Tyrosinase und Catechol Oxidase geforscht. Als mögliche Faktoren wurden unter anderem die Anwesenheit eines Aminosäurerestes in der Catechol Oxidase postuliert, welcher in das aktive Zentrum ragt und möglicherweise eine Abschirmung der Substratbindungsstelle (Cu_A) bewirkt. Weiterhin wurde die zusätzliche Stabilisierung durch eine Cystein-Histidin-Bindung eines an Cu_A koordinierten Histidin-Restes in der Catechol Oxidase als mögliche Ursache für die unterschiedlichen Reaktivitäten diskutiert.^[11, 115, 124]

Anhand der Kristallstrukturen der Tyrosinase aus *Bacillus megaterium* (TyrBm) stellten FISHMAN und Mitarbeiter die Hypothese auf, dass die Existenz einer konservierten Glutaminsäure und einer Asparagin-Einheit in Nachbarschaft des aktiven Zentrums für die Monophenolase-Aktivität der Tyrosinase verantwortlich sind. Es wurde vermutet, dass die Aminosäuren ein Wassermolekül aktivieren, welches anschließend als „aktive Base“ fungiert und Monophenole deprotonieren kann.^[128, 130]

Vor kurzem erst gelang es, für diese Hypothese einen ersten experimentellen Beweis zu liefern. Die hierzu isolierte Polyphenoloxidase L-VvPPOcs-3 aus Weinblättern zeigt lediglich eine Diphenolase-Aktivität. Im Bereich der beiden Histidine (H_{B1} und H_{B2}), welche an das Cu_B koordinieren, wurde eine streng konservierte Glutaminsäure gefunden. Der Vergleich mit der Kristallstruktur von TyrBm zeigte, dass L-VvPPOcs-3, im Gegensatz zu der Tyrosinase, zusätzlich zur Glutaminsäure kein Asparagin in diesem Abschnitt enthält, sondern ein Glycin-Rest (G241). Durch eine ortsgerichtete Mutagenese, bei der der Glycin-Rest durch ein Asparagin ersetzt wurde, konnte eine Monophenolase-Aktivität des Enzyms erzielt werden. Daraus folgend ergibt sich, dass sowohl eine konservierte Glutaminsäure als auch ein Asparagin in Nachbarschaft des aktiven Zentrums essentiell für die Tyrosinase-Aktivität ist und die Substitution von Asparagin gegen eine andere Aminosäure zu einer Diphenolase-Aktivität führt.^[115, 131]

Darüber hinaus konnten weitere Unterschiede in den PPO-Strukturen beobachtet werden. Pflanzliche PPOs enthalten in der Regel zwei Proline in der an Cu_B angrenzenden α -Helix, wovon eines streng konserviert und eines variabel ist. Abbildung 6.8 zeigt beispielhaft die topologische Position der beiden Proline Pro242 (variabel) und Pro239 (konserviert) der PPO (*IbPPO*) aus *Ipomoea batatas*.^[115] Dieses streng konservierte Prolin ist nur in pflanzlichen Catechol Oxidasen und Tyrosinasen vorhanden, stellt jedoch kein Hindernis für die Monophenolase-Aktivität dar, sondern variiert lediglich die katalytische Effizienz bzw. die Substratspezifität. Im Fall von Tyrosinasen aus anderen Organismen, wie beispielsweise Bakterien oder Pilzen, konnten keine Proline in der α -Helix gefunden werden, was in Abbildung 6.8 anhand der Pilz-Tyrosinase *AbTyr* aus *Agaricus bisporus* gezeigt wird. Diese Tatsache hat im Vergleich zu Tyrosinasen mit Prolin-Einheiten eine ausgeprägtere katalytische Effizienz zur Folge.^[126, 131] Ferner wird hier anhand von *AbTyr* noch einmal die Anordnung des konservierten Wassermoleküls, der Glutaminsäure und des

Asparagins veranschaulicht, dessen topologische Lage, unabhängig von den Prolin-Resten, immer gleich ist.^[131]

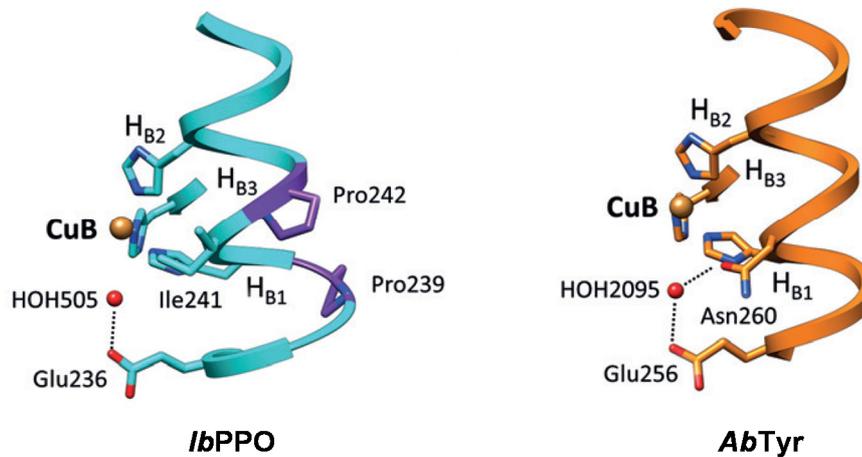


Abbildung 6.8: Links: Ausschnitt des aktiven Zentrums der Catechol Oxidase, isoliert aus der Süßkartoffel *Ipomoea batatas* (IbPPO). Rechts: Ausschnitt des aktiven Zentrums der Tyrosinase, isoliert aus dem Champignon *Agaricus bisporus* (AbTyr).^[131]

Der in Abbildung 6.9 dargestellte Mechanismus verdeutlicht das Zusammenspiel des Asparagin- und Glutaminsäurerestes im Hinblick auf die Aktivierung des konservierten Wassermoleküls. Die beiden Aminosäuren binden im ersten Schritt das Wassermolekül in einem Abstand von 3 Å und orientieren das partiell negativ geladene Sauerstoffatom des Wassers so, dass dieses auf das azide Proton des Monophenols weist. Im zweiten Schritt der Reaktionsfolge wird das Substrat, bei Annäherung an das aktive Zentrum, durch das Wassermolekül deprotoniert. Der pK_B -Wert des Wassers ist nur dann ausreichend niedrig für die Deprotonierung, wenn beide Aminosäuren vorhanden sind. Fehlt das Asparagin, wird nur eine Diphenolase-Aktivität beobachtet. Das erhaltene Phenolat wird im dritten Schritt von Cu_A in einer Entfernung von ca. 2 Å gebunden. Im Anschluss findet ein elektrophiler Angriff der Peroxo-Einheit in *ortho*-Position des Arens statt und ein asymmetrisch gebundenes Catecholatomolekül resultiert. Durch den Rücktransfer des Protons von dem Hydronium-Ion auf das verbrückte Hydroxid wird Wasser freigesetzt und die Zweielektronen-Oxidation des Catecholats zum Chinon erleichtert, wobei der Katalysator regeneriert wird (Schritt 4).^[131]

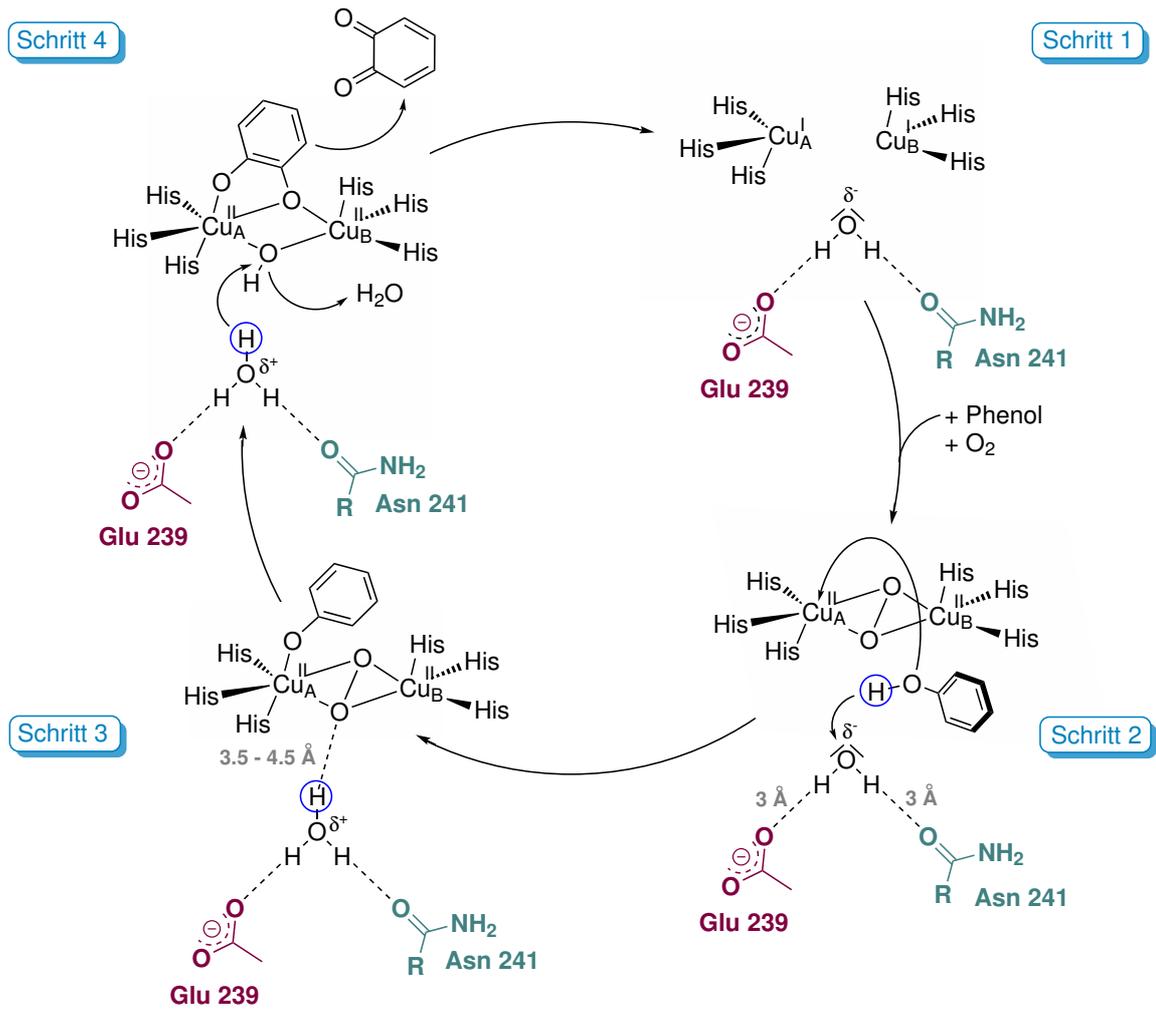


Abbildung 6.9: Mechanismus der Deprotonierungsreaktion von Monophenolen im Tyrosinase-Zyklus.^[131, 132]

6.3 Modellsysteme der Tyrosinase und Catechol Oxidase im Überblick

6.3.1 Modellsysteme der Catechol Oxidase

Um die Einflüsse von synthetischen Parametern auf die Catechol Oxidase Aktivität zu überprüfen, wurden bis heute zahlreiche unterschiedliche Modellsysteme entwickelt, wobei ein besonderer Fokus auf der Aufklärung der jeweiligen Reaktionsmechanismen lag.^[5, 133, 134, 135, 136]

2016 haben MUKHERJEE *et al.*^[137] diese Modellsysteme, bezogen auf ihre molekulare Aktivität, welche durch die Geschwindigkeitskonstante k_{cat} beschrieben wird, geordnet. Dadurch resultiert, dass die Kupfer(II)-Komplexe, die entweder eine Phenoxo-Brücke oder eine Actetat-Brücke beinhalten und gleichzeitig Stickstoffdonoren aus aromatischen Iminen zur Verfügung stellen, die aktivsten Katalysatoren für die Oxidations-Reaktion von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBQ sind.^[138, 139] Ein Grund für diese Beobachtung sind die relativ starren Ligandengerüste dieser Kupfer(II)-Modellkomplexe, welche eine nahezu quadratisch-planare Geometrie aufweisen.

Abbildung 6.10 zeigt eines der aktivsten Ligandengerüste und dessen Substitutionsmuster für die Catechol Oxidase-Reaktion, welche von DAS *et al.*^[140, 141] publiziert wurden und aus einem mit Imingruppen substituierten Phenol-Spacer bestehen.

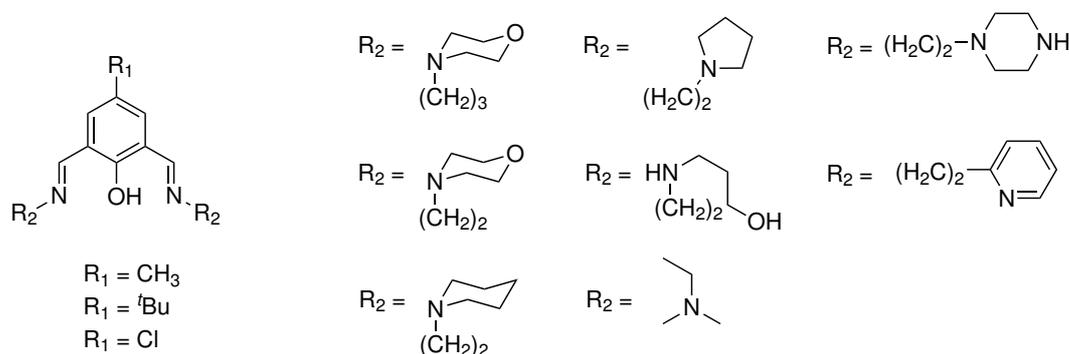


Abbildung 6.10: Substitutionsmuster eines Ligandendesigns von DAS *et al.*^[140, 141]

Die Autoren konnten für die entsprechenden Kupfer(II)-Komplexe in Acetonitril oder Methanol Werte für k_{cat} von bis zu $3.24 \cdot 10^4 \text{ h}^{-1}$ erzielen und erstmals Enzym-Substrat Addukte spektroskopisch detektieren.

Verwandte makrozyklische Systeme und Systeme, bei denen eine Imingruppe durch eine Aldehyd-Funktion substituiert wurde wodurch ein weiterer Sauerstoffdonor zur Verfügung steht, weisen ähnlich gute Werte für k_{cat} von $0.505 \cdot 10^2 \text{ h}^{-1}$ bis $2.88 \cdot 10^4 \text{ h}^{-1}$ auf (Abbildung 6.11).^[140, 141]

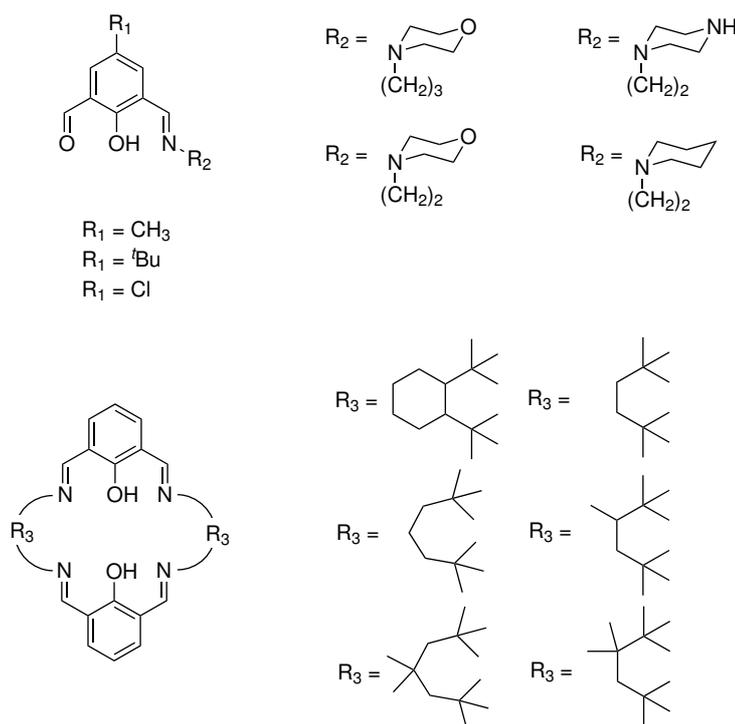


Abbildung 6.11: Ausgewählte Liganden, die neben einem Phenol-Spacer und einer Imin-Funktion zusätzlich eine Aldehydgruppe beinhalten (oben)^[140] und makrozyklische Modellsysteme (unten).^[140, 141]

Modellsysteme, wie sie in Abbildung 6.12 beispielhaft mit Imidazolen, Pyrazolen oder Pyridinen als Stickstoffdonoren aufgeführt sind, weisen eine flexiblere Anordnung um die Kupfer(II)-Zentren auf. Hierdurch findet einerseits keine Vororientierung der für die Katalyse-Aktivität wichtige quadratisch-planare Geometrie mehr statt, andererseits stabilisieren diese Modellsysteme wiederum die Redoxreaktionen der Kupfer-Zentren und weisen daher moderate katalytische Aktivitäten von 460 h^{-1} bis 3120 h^{-1} auf.^[142, 143, 144, 145, 146, 147]

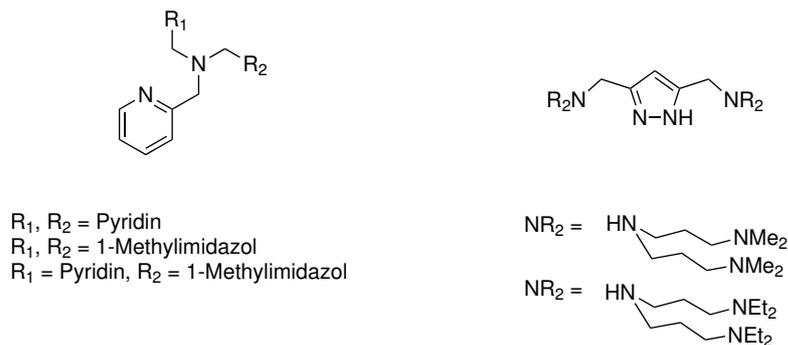


Abbildung 6.12: Ausgewählte Liganden mit Imidazol- bzw. Pyridin-Substituenten (links) und Pyrazol-basierte Ligandensysteme (rechts).^[142-147]

Um die Vielfalt an möglichen Liganden zu erweitern, wurden ebenfalls Modellsysteme entwickelt, die Schiff'sche Basen^[148, 149], chirale Liganden^[150], Ferrocen-substituierte heterozyklische Hydrazide^[151] oder Piperazin-basierte Liganden^[152] enthalten (Abbildung 6.13).

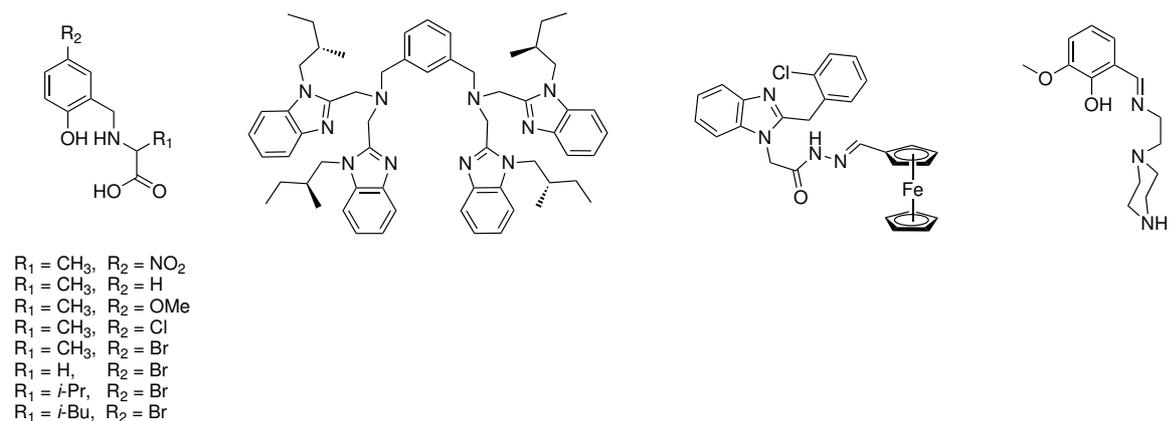


Abbildung 6.13: Weitere ausgewählte Liganden von links nach rechts: Ligand mit Schiff'scher Base, chiraler Ligand, Ferrocen-substituierter heterozyklischer Hydrazid-Ligand und Piperazin-basierter Ligand.^[148-152]

6.3.2 Modellsysteme der Tyrosinase

Die Entwicklung von katalytischen Modellsystemen der Tyrosinase ist ein lang ersehntes Ziel der bioanorganischen Chemie und hat einen großen Stellenwert in den letzten 30 Jahren eingenommen. Anders als bei der Catechol Oxidase ist die Anzahl an katalytisch aktiven Kupfer-Komplexen bis heute gering, so dass bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht alle mechanistischen Fragen und insbesondere die Korrelation zwischen der katalytischen Effizienz und dem Ligandendesign geklärt werden konnten. Generell kann eine Differenzierung in zwei Kategorien vorgenommen werden. Es können die Systeme, die eine aromatische Hydroxylierung des an das Kupfer-Zentrum koordinierten Liganden vornehmen, von denen, die in der Lage sind, externe Substrate zu oxygenieren, unterschieden werden. In dieser Arbeit wurden ausschließlich Systeme entwickelt und mit dem Hintergrund untersucht, externe Substrate zu oxygenieren, so dass im Folgenden eine Übersicht der zeitlichen Entwicklung geeigneter Modellsysteme der Tyrosinase für die Umsetzung externer Substrate der letzten Jahre gegeben wird.

Abbildung 6.14 bietet einen Überblick über die zeitliche Entwicklung ausgewählter Modellsysteme der letzten drei Jahrzehnte.

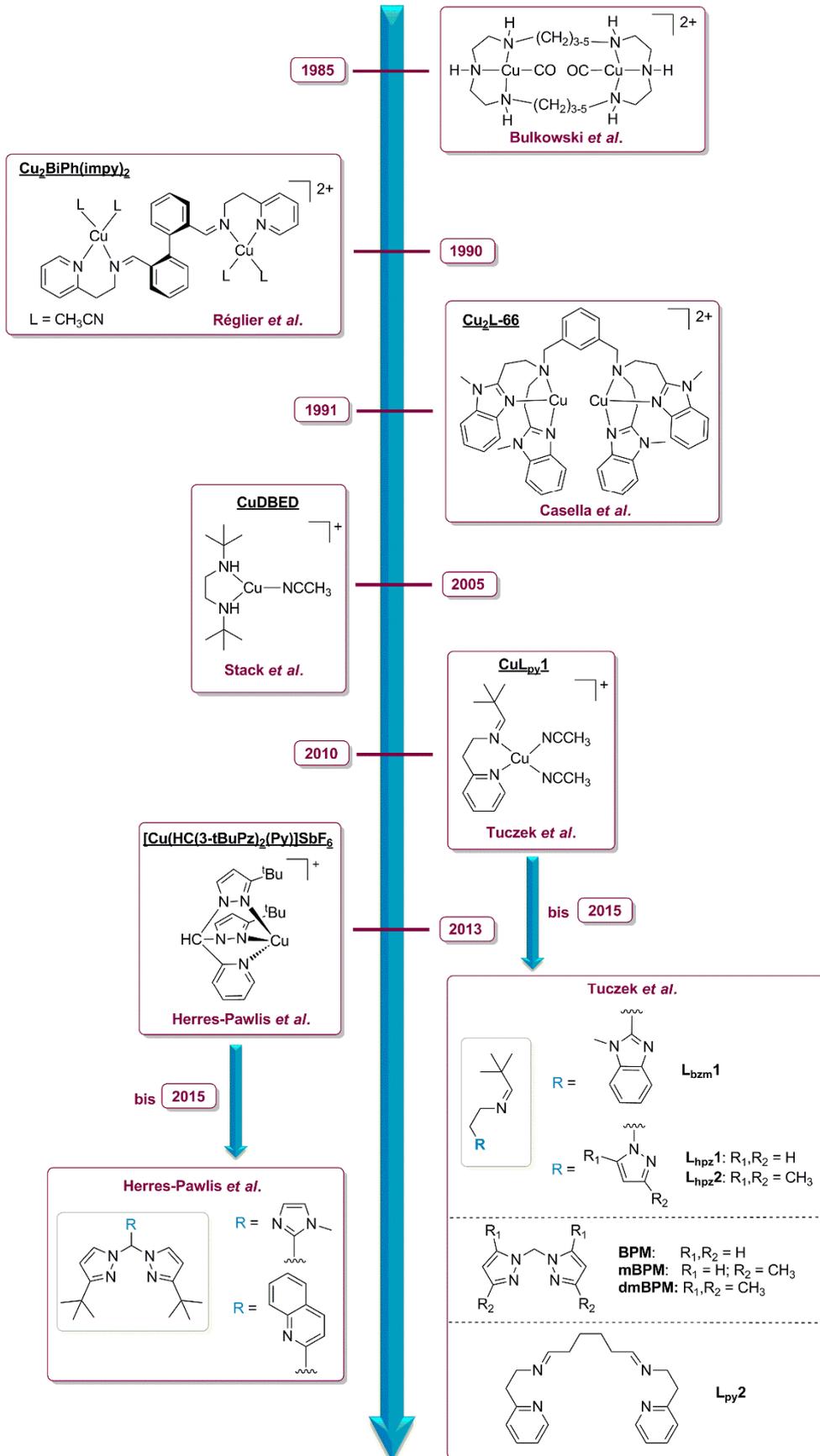


Abbildung 6.14: Zeitliche Entwicklung der Tyrosinase-Modellsysteme.

BULKOWSKI ist es im Jahre 1985 erstmals gelungen, die katalytische Monophenolase-Reaktion auf einfache Modellsysteme zu übertragen.^[153] Die eingesetzten vier- bzw. sechszähligen makrozyklischen Liganden basieren auf Alkyl-verbrückte sekundäre Amine, wobei die vierte Koordinationsstelle durch einen CO-Ligand abgesättigt wurde. Die Oxygenierungs-Reaktionen, welche mit Hilfe dieser binuklearen Kupfer(I)-Komplexe durchgeführt wurden, fanden in Anwesenheit von 100 Äq. Phenol, 200 Äq. Triethylamin, wasserfreiem Calciumsulfat und einem Überschuss an Sauerstoff statt. Das Reaktionsgemisch zeigte nach Umsetzung von Phenol eine maximale Ausbeute von 20-30 % 1,2-Benzochinon und enthielt neben dem Edukt und dem korrespondierenden Catechol weitere nicht identifizierte Nebenprodukte (Abbildung 6.15).

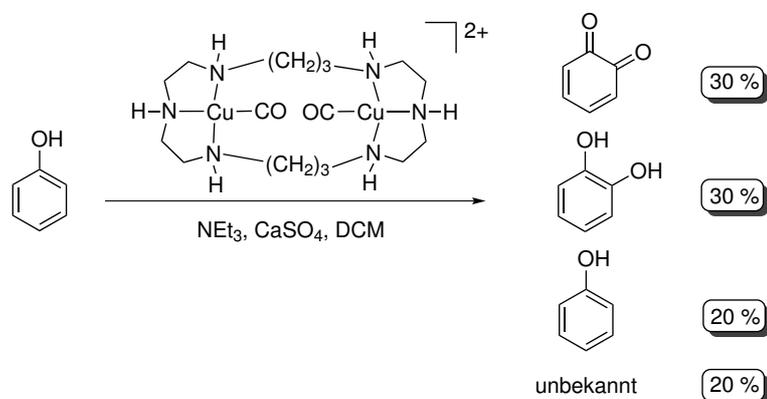


Abbildung 6.15: Oxygenierungs-Reaktion von Phenol zu *ortho*-Benzochinon, 3,5-Di-*tert*-butylcatechol und Nebenprodukten, katalysiert durch einen von BULKOWSKI entwickelten binuklearen Kupfer(I)-Komplex.

Sechs Jahre später veröffentlichten RÉGLIER und Mitarbeiter^[154] ein weiteres binukleares Modellsystem, welches zwei Pyridylethylimin-Einheiten aufweist, die über einen Biphenyl-Spacer verbrückt vorliegen (**BiPh(imp)₂**). Es konnte gezeigt werden, dass der resultierende Kupfer(I)-Komplex **Cu₂BiPh(imp)₂** die Oxygenierung von 100 Äq. 2,4-Di-*tert*-butylphenol (DTBP-H), in Anwesenheit von 200 Äq. Triethylamin und molekularem Sauerstoff, zu dem korrespondierenden 3,5-Di-*tert*-butylchinon (3,5-DTBQ), mit einer *turnover number* von 16 nach einer Stunde, vermittelt (Abbildung 6.16). Die Desaktivierung des Katalysators nach einer Stunde wurde durch die Bildung einer μ -oxo-Spezies begründet. In Abwesenheit von Triethylamin konnte keine Monophenolase-Aktivität beobachtet werden, sondern die Bildung des C-C-Kupplungsproduktes 3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol.^[154]

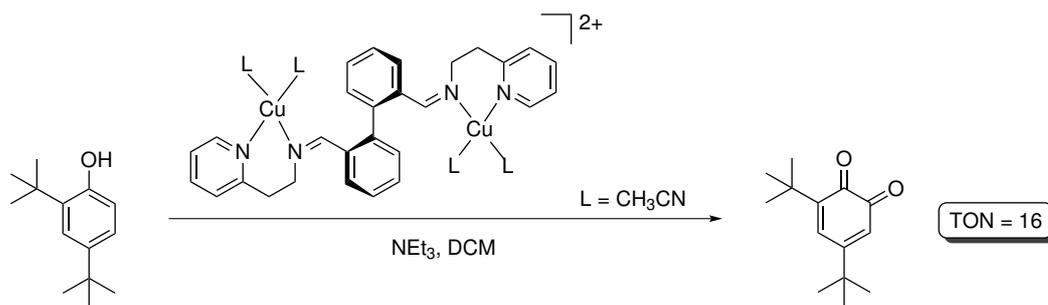


Abbildung 6.16: $\text{Cu}_2\text{BiPh}(\text{impy})_2$ vermittelte Oxygenierung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ.

Ein Jahr später, im Jahre 1991, veröffentlichten CASELLA *et al.*^[155] den sechszähligen Liganden α,α' -Bis(bis[2-(1'-methylbenzimidazol-2'-yl)ethyl]amino)-*m*-xylen (**L-66**). Der Ligand besteht aus einem Xylol-Spacer, welcher in 1- und 3-Position ein tertiäres Amin enthält, an denen je zwei Benzimidazol-Einheiten gebunden sind. Die Monophenolase-Aktivität des entsprechenden binuklearen Kupfer(I)-Komplexes $\text{Cu}_2\text{L-66}$ wurde anhand von 4-Hydroxy-benzoessäuremethylester (MeBA-OH) untersucht, da das entsprechende Catechol aufgrund der elektronenziehenden Methoxy-Einheit relativ stabil gegenüber weiteren Oxidations-Reaktionen ist.^[155] Der stöchiometrische Einsatz des Natrium-Phenolats MeBA-ONa in Anwesenheit von 1 Äq. $\text{Cu}_2\text{L-66}$ und einem Überschuss von molekularem Sauerstoff in Acetonitril, zeigte eine Hydroxylierung in *ortho*-Position (Abbildung 6.17). Das gewünschte Catechol wurde mit einer Ausbeute von 37 % isoliert.

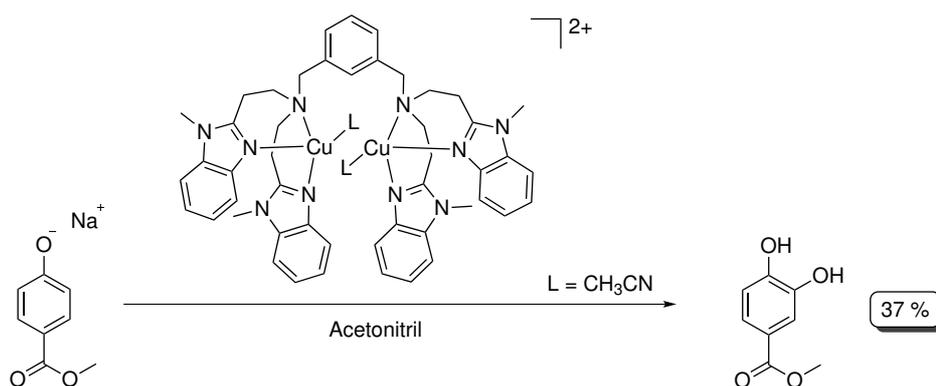


Abbildung 6.17: $\text{Cu}_2\text{L-66}$ vermittelte Hydroxylierung von MeBA-ONa zum korrespondierenden Catechol.

Neben dem eingesetzten Monophenol konnten keine unphysiologischen C-C-Kupplungsprodukte gefunden werden. Der Einsatz von dem protonierten Substrat MeBA-OH zeigte keine Umsetzung zu dem gewünschten Catechol, ebenso wenig wie die

Oxygenierung in protischen Lösungsmitteln wie Methanol. Eine katalytische Oxygenierung von 2,4-DTBP-Na zu 3,5-DTBQ konnte mit einer Ausbeute von 84 % erzielt werden (Abbildung 6.18). Hierfür wurden 2,4-DTBP-Na und $\text{Cu}_2\text{L-66}$ in einem molaren Verhältnis von 1.5 : 1 eingesetzt.

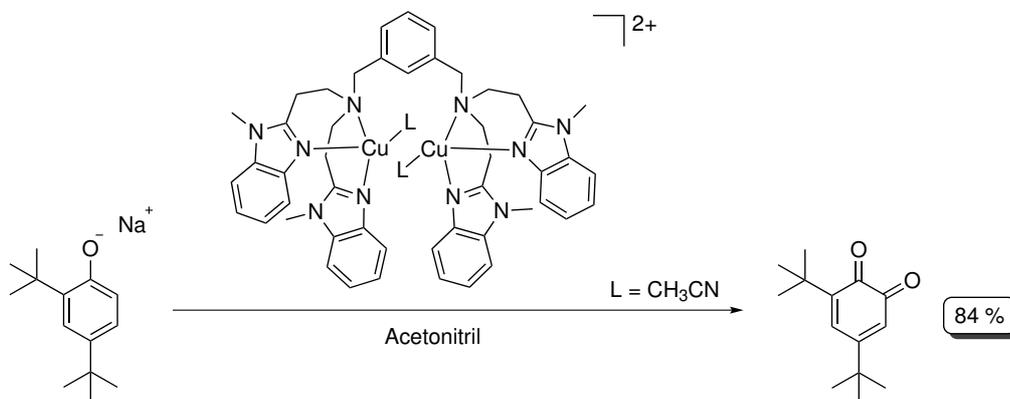


Abbildung 6.18: $\text{Cu}_2\text{L-66}$ vermittelte Oxygenierung von 2,4-DTBP-Na zu 3,5-DTBQ.

In darauffolgenden Untersuchungen konnten ausgewählte reaktive Intermediate des postulierten Mechanismus detektiert werden. So gelang es CASELLA *et al.* mittels Tieftemperatur UV/Vis-Spektroskopie ($-80\text{ }^\circ\text{C}$), den entsprechenden $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Komplex}$ in Aceton bei 362 nm ($\epsilon = 15000\text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 455 nm ($\epsilon = 2000\text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) und 550 nm ($\epsilon = 900\text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) zu detektieren.^[156] Ferner konnten die Autoren bei tiefen Temperaturen die Ausbildung einer Catecholato-Kupfer(II)-Spezies, wie sie auch in dem Katalysezyklus der nativen Tyrosinase postuliert wird, mit dem Substrat MeBA-ONa UV/Vis-spektroskopisch bei 340 nm und 430 nm beobachten. Die gefundenen Absorptionsbanden wurden den Charge-Transfer-Übergängen des Catecholats zu Kupfer(II) zugeordnet.^[157]

Ein weiteres Modellsystem, welches Tyrosinase-Aktivität gegenüber externen Substraten aufweist, stellt das mononukleare Kupfer(I)-System mit dem Liganden *N,N'*-Di-*tert*-butylethylendiamin (**DBED**) dar, welches erstmals 2005 von STACK *et al.*^[158] publiziert wurde. Durch Einleiten von molekularem Sauerstoff in eine Lösung, bestehend aus Cu(I)DBED in aprotischen Lösungsmitteln, wurde der entsprechende $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Komplex}$ bei $-80\text{ }^\circ\text{C}$ generiert (350 nm , $\epsilon = 36000\text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Durch anschließende Zugabe von 2,4-DTBP zu dem Peroxo-Intermediat wurde ein 1 : 1 Gemisch aus 3,5-DTBC- H_2 und 3,5-DTBQ erhalten. Die Reaktion des $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-$

Komplexes mit 2,4-DTBP in 2-Methyltetrahydrofuran bei $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$ zeigte hingegen die Ausbildung einer Phenolat-bindenden Bis- μ -oxodikupfer(III)-Spezies bei 418 nm ($\epsilon = 18000\text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) und einer schwachen Absorptionsbande bei 630 nm , welche einem Phenolat zu Kupfer Charge-Transfer-Übergang zugeordnet wurde. Somit lieferten STACK *et al.* den ersten Beweis für ein „ternäres Intermediat“ ($\text{Cu} + \text{O}_2 + \text{Phenolat}$). Weiterführende UV/Vis-spektroskopische Studien und die Einbeziehung von DFT-Rechnungen zeigten die anschließende Umwandlung des ternären Intermediates in eine Catechol-at-verbückte binukleare Kupfer(II)-Spezies, welche im Anschluss weiter zum Semichinon-Komplex reagiert (Abbildung 6.19).^[158, 159]

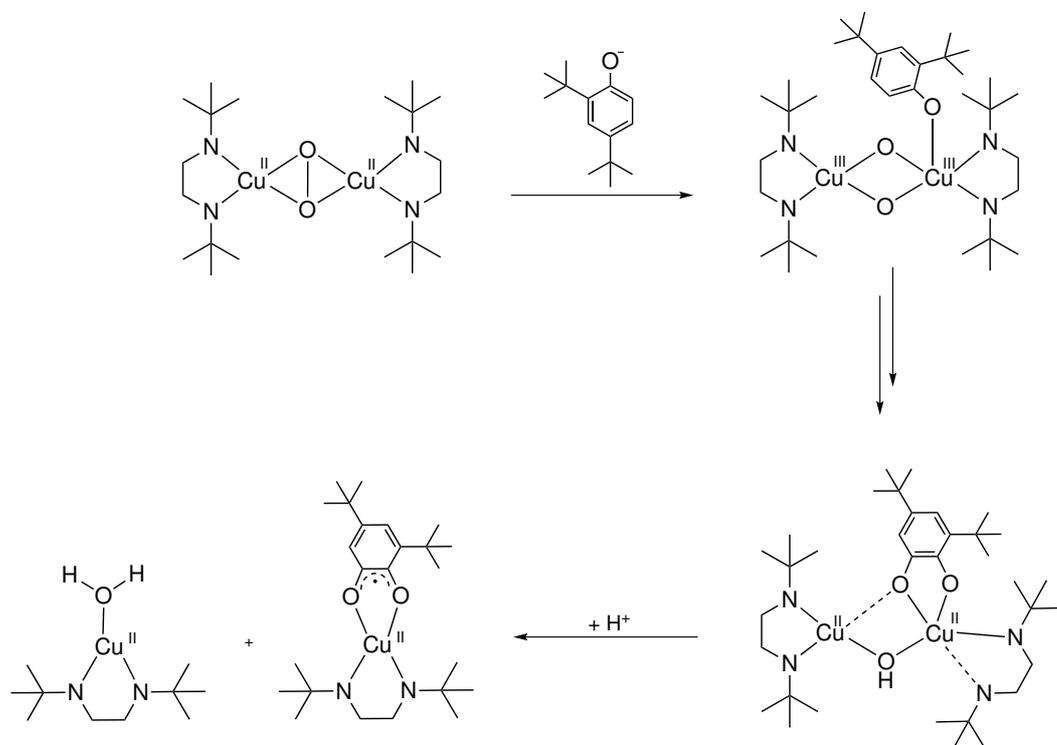


Abbildung 6.19: Reaktionsmechanismus von $[\text{Cu}_2(\text{DBED})_2(\text{O}_2)]^{2+}$ mit 2,4-DTBP.^[159]

Vor kurzem demonstrierten LUMB *et al.* mit dem katalytisch aktiven Cu(I)DBED System die Generierung von nutzbringenden organischen Produkten ausgehend von einer Vielzahl gering substituierter Monophenole. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass entgegen aller zuvor diskutierten Modellsysteme, bei denen der Einsatz einer Brønsted Base essentiell für die katalytische Aktivität ist, LUMB und Mitarbeiter stattdessen den Liganden DBED in einem geringen Überschuss einsetzen. Das Diamin fungiert damit nicht nur als Ligand, sondern auch als interne Base und macht somit eine Monophenolase-

Aktivität möglich. Ferner konnten sie die Ausbildung eines Semichinon-Komplexes während der Katalyse spektroskopisch verfolgen und isolieren.^[160, 161, 162, 163, 164, 165]

Das erste katalytisch aktive mononukleare Tyrosinase Modellsystem wurde 2010 von TUCZEK *et al.*^[166] veröffentlicht. Der bidentate Ligand 2-[(*tert*-Butyl)iminoethylen](pyridin-2-in) (**L_{py1}**) besteht aus einer Pyridin- und einer Imin-Einheit, welche durch eine Ethyl-Funktion miteinander verbrückt sind. Der entsprechende Kupfer(I)-Komplex **CuL_{py1}** katalysiert unter Réglie-/Bulkowski-Bedingungen die Oxygenierung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ mit einer *turnover number* von 22. Durch Substitution des Heteroaromaten in den darauffolgenden Jahren gegen eine Benzimidazol-Einheit (**L_{bzm1}**) oder unterschiedlich substituierter Pyrazole (**L_{hpz1}**, **L_{hpz2}**), konnte die katalytische Effizienz auf 31 *turnover* gesteigert werden. (Tabelle 6.1, Abbildung 6.14). Damit stellt **CuL_{bzm1}** bis zu diesem Zeitpunkt das leistungsfähigste Tyrosinase-Modellsystem in der Literatur dar.^[167, 168]

Tabelle 6.1: Vergleich der katalytischen Aktivitäten (TON) und der *turnover frequency* (TOF) der einzelnen Kupfer(I)-Komplexe für die Umwandlung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ.

Kupfer(I)-Komplex	CuL _{py1}	CuL _{hpz2}	CuL _{hpz1}	CuL _{bzm1}
TON	22	23	29	31
TOF nach 15 min	0.41	0.62	0.85	0.84

Untersuchungen von Kupfer(I)-Komplexen mit symmetrischen Bis(pyrazolyl)methan-Liganden (**BPM**, **mBPM**, **dmBPM**, Abbildung 6.14) wiesen hingegen eine geringere katalytische Effizienz auf.^[169] Die systematische Variation des Ligandengerüsts konnte erste Hinweise auf die Korrelation von sterischen und elektronischen Einflüssen des Liganden mit der katalytischen Effizienz liefern.

Mit dem Hintergrund, die Intermediate des Katalysezyklus zu stabilisieren, wurde 2015 in der Arbeitsgruppe von TUCZEK der binukleare Komplex **Cu₂L_{py2}** entwickelt, welcher zwei Pyridin/imin-Einheiten über eine flexible Alkylkette miteinander verbrückt. Die katalytische Effizienz ist mit 18 *turnover* zwar geringfügig niedriger als die des Stammsystems **CuL_{py1}**, das Ligandendesign ermöglichte jedoch die Stabilisierung der intermediären Catecholato-Kupfer(II)-Spezies mit dem elektronenarmen Substrat MeBa-OH und erlaubte somit eine Charakterisierung mittels hochauflösender Elektrosprayionisations-Massenspektrometrie (HR-ESI-MS).^[170]

HERRES-PAWLIS *et al.*^[171] entwickelten 2013 den tripodalen Liganden **HC(3-tBuPz)₂(Py)**, welcher zwei *tert*-Butyl substituierte Pyrazole und ein Pyridinring aufweist (Abbildung 6.14). Der dazugehörige Kupfer(I)-Komplex [Cu(I)(HC(3-tBuPz)₂(Py))]SbF₆ oxygeniert unter Réglér-/Bulkowski-Bedingungen eine Reihe unterschiedlicher Monophenole zu den entsprechenden Chinonen. Das besondere dieses Modellsystems ist die Ausbildung eines raumtemperaturstabilen Peroxo-Intermediates, welches aufgrund der *tert*-Butyl-Einheiten und dem Pyridin-Liganden stabilisiert wird. Durch gezielte Substitution dieser dritten Donor-Funktion gegen 1-Methylimidazol bzw. Chinolin, konnte der Einfluss auf die Katalyse ermittelt werden. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass durch Substitution der Pyridin-Einheit gegen 1-Methylimidazol eine Steigerung der Hydroxylierungsgeschwindigkeit des Peroxo-Intermediates erzielt werden konnte, was auf den Anstieg der Donor-Stärke zurückzuführen ist.^[172]

7 Ziele dieser Arbeit Teil II

Auch nach jahrzehntelanger Forschungsarbeit auf dem Gebiet der Kupfer Typ 3 Enzyme und der daraus gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der enzymatischen Strukturen sowie erste mechanistische Einblicke, ist es bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht gelungen, alle Fragen der jeweiligen Reaktionsmechanismen im Detail zu beantworten.

Ein besonderes Interesse an neuen Erkenntnissen über Reaktionsabläufe in enzymatischen Systemen basiert unter anderem auf der Entwicklung gezielter Ansätze für Krankheitstherapien. Ferner besteht eine große Nachfrage der Industrie an synthetisch gewonnenen Substanzen zur Herstellung von Medikamenten, Vitaminen, aromatischen Bestandteilen in Parfümen und vielem mehr. Hierfür werden Katalysatoren benötigt, die es zum einen ermöglichen, schwer zugängliche organische Produkte mit hohen Umsatzraten und einer hohen Selektivität zu synthetisieren und zum anderen ökologisch vertretbar sind.

Aus diesem Grunde beschäftigt sich ein Forschungsschwerpunkt dieser Arbeit mit der Synthese und den mechanistischen Studien an Kupfer-Modellsystemen für die Catechol Oxidase sowie der Tyrosinase. Nachdem im Jahr 2010 in der Arbeitsgruppe TUCZEK^[166] der erste mononukleare Kupfer(I)-Komplex synthetisiert wurde, der die Umsetzung von 3,5-Di-*tert*-butylphenol (3,5-DTBP-H) zu 3,5-Di-*tert*-butyl-*o*-chinon (3,5-DTBQ) mit Hilfe des Komplexes CuL_{py}1 katalysiert, sollen auf Basis dieser Struktur weitere Modellsysteme für die Tyrosinase entwickelt werden. Der Ligand des Stammsystems 2-[(*tert*-Butyl)iminoethylen](pyrid-2-in) (L_{py}1) besteht aus einer Pyridin- und einer Imin-Einheit, welche durch eine Ethyl-Funktion miteinander verbrückt sind (Abbildung 7.1, links). Ausgehend hiervon, sollen neue, potentielle, mononukleare Modellsysteme synthetisiert werden. Der erste Ligand soll durch Modifizierung des Heteroaromaten des CuL_{py}1 erhalten werden. In dem nativen Enzym der Catechol Oxidase bzw. Tyrosinase ist jedes der Kupferzentren von drei Histidin-Resten umgeben. Um dem Modellsystem eine biomimetische Komponente zu verleihen, soll die Pyridin-Funktion durch einen Imidazolring substituiert werden. Der auf diese Weise erhaltene L_{imz}1 soll, je nach Löslichkeit in Dichlormethan, in 1-Position des Imidazolrings abgesättigt werden (Abbildung 7.1, rechts).

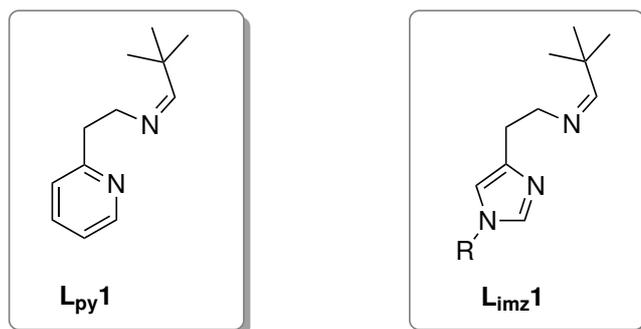


Abbildung 7.1: Dargestellt sind die Liganden **L_{py1}** und **L_{imz1}**, wobei R einen aliphatischen Rest darstellt.

Allerdings beinhaltet das Ligandendesign aufgrund der hydrolyselabilen Imin-Funktion eine Schwachstelle. Da während der Katalyse Wasser entsteht, ist es möglich, dass ein Fortschreiten der Reaktion mit der Zeit zu einer Zersetzung des Katalysators führt und damit ein Abbruch der Katalyse impliziert. Auf Grundlage dieser Erkenntnis, sollen neue bidentate Modellsysteme dargestellt werden, die dieser Problematik entgegenwirken. Im nächsten Entwicklungsschritt soll deshalb die Imin-Funktion gegen eine Oxazolin-Einheit substituiert werden. Der Abstand der beiden *N*-Donorliganden, die an das Kupfer-Zentrum koordinieren, soll hierbei nicht verändert werden. Die Oxazolin-Einheit soll zudem in 2-Position durch unterschiedliche endständige Gruppen substituiert werden, um Einblicke über sterische Effekte zu erhalten. Die zu synthetisierenden Liganden sind 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**L_{OL1}**), 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-(*tert*-butyl)-4,5-dihydrooxazol (**L_{OL2}**), 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-methyl-4,5-dihydrooxazol (**L_{OL3}**) und 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-4,5-dihydrooxazol (**L_{OL4}**) (Abbildung 7.2).

Neben der Kombination von einer Imidazol-Einheit und einer Oxazolin-Einheit, sollen auch die Eigenschaften des in der Literatur bekannten Ligandensystems Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**BIMZ**)^[173] untersucht werden, welches aus zwei Imidazol-Einheiten besteht, die methylverbrückt vorliegen (Abbildung 7.2). Ausgehend von den dargestellten Liganden, sollen die entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe synthetisiert und charakterisiert werden.

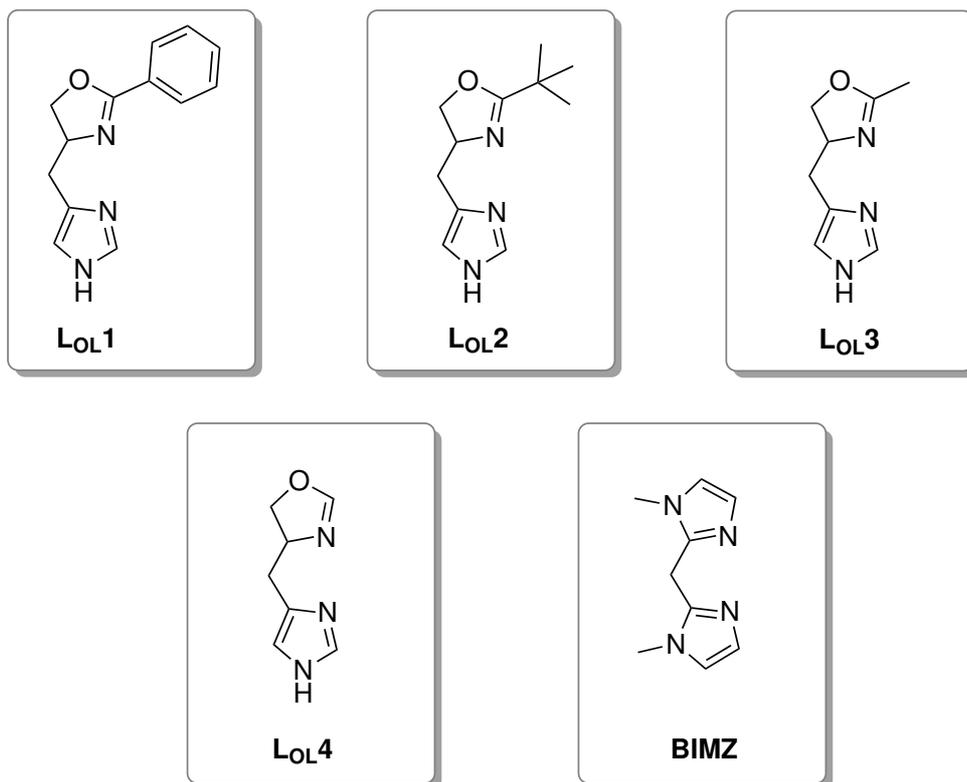


Abbildung 7.2: Dargestellt sind die zu synthetisierenden Liganden **Lol1-4** und **BIMZ**.

Die ersten katalytischen Untersuchungen dieser Modellsysteme sollen Oxidationsreaktionen von 3,5-DTBC-H₂ in Dichlormethan darstellen (Catechol Oxidase-Reaktion). Durch die schrittweise Variation der Liganden, soll empirisch erfasst werden, welche Korrelation zwischen der Struktur und der katalytischen Effizienz besteht.

Weitere mechanistische Studien, wie der Nachweis von Wasserstoffperoxid während der Oxidation und die Detektion von Zwischenstufen, sollen anschließend Rückschlüsse auf den möglichen Reaktionsmechanismus zulassen.

Im Anschluss sollen die Systeme auch auf die komplexere Tyrosinase-Aktivität untersucht werden. Anhand von verschiedenen Monophenolen soll die katalytische Effizienz und die Selektivität der Kupfer(I)-Komplexe ermittelt werden. Auch hier besteht ein großes Interesse an dem Aspekt, wie sich die Variation der Liganden auf die Reaktivität der Modellkomplexe auswirkt. Die mechanistischen Studien nehmen hierbei, analog zu den Untersuchungen der Catechol Oxidase-Reaktivitäten, einen hohen Stellenwert ein. Durch das Herabsetzen der Reaktionsgeschwindigkeit, beispielsweise durch Oxygenierung in einem stöchiometrischen Modus oder tiefen Temperaturen, wird die Detektion von

Intermediaten erhofft, die anschließend einen Hinweis auf den Mechanismus liefern und v. a. Unterschiede in der Katalyse der jeweiligen Kupfer(I)-Komplexe aufdecken könnten. Die separate Synthese der dazugehörigen $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Komplexe}$, eine der wichtigsten reaktiven Zwischenstufen des Tyrosinase-Zyklus, soll eine Einschätzung über die Stabilität bzw. Reaktivität erlauben.

Eine der zentralen Fragestellungen bei der Tyrosinase-Reaktion mit Modellkomplexen befasst sich mit der Desaktivierung der Katalyse. In vorangegangenen Studien von J. Schottenheim^[170, 174] wurde postuliert, dass sich eine nicht katalytische Spezies während der Tyrosinase-Reaktion ausbildet, welche maßgeblich für den Abbruch der Katalyse verantwortlich ist. Daher wurde, ausgehend von einer Absorptionsbande bei 600 nm, welche sich während der Oxygenierung ausbildete, ein Bis- μ -hydroxo-Kupfer(II)-Komplex bzw. ein Kupfer(II)-Semichinon-Komplex ($[\text{Cu(II)(NEt}_3)_2(3,5\text{-DTBSQ})]\text{PF}_6$) postuliert. Jedoch konnte nicht zweifelsfrei belegt werden, dass beide oder einer dieser Komplexe ursächlich für den Abbruch der Katalyse waren. Der Ansatz für diese Arbeit besteht demnach darin, die Komponenten der Katalyse zu ermitteln, die für die Entstehung der Absorptionsbande bei 600 nm verantwortlich sind und in der Untersuchung, ob diese Spezies den Abbruch der Katalyse bewirkt. Nachfolgend sollen weitere Untersuchungen bezüglich der Desaktivierung der Katalyse ausgearbeitet werden.

Durch ergänzende DFT-Studien sollen weitere Informationen über die Struktur- und Reaktivitäts-Beziehungen der Kupfer(I)-Komplexe erhalten werden.

8 Synthesestrategien Imidazol-basierter Modellsysteme

8.1 Syntheseübersichten neuer bidentater Liganden und der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe als Modellsysteme für die Catechol Oxidase- und Tyrosinase-Reaktion

Im folgenden Abschnitt werden die entwickelten Synthesestrategien für die Darstellung von insgesamt fünf unterschiedlichen bidentaten Ligandensystemen und die Generierung der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe schrittweise erläutert. Beginnend mit den Oxazolin-basierten Modellsystemen wird in den darauffolgenden Syntheseabschnitten die Weiterentwicklung von unterschiedlichen Syntheseansätzen für die Darstellung von Liganden diskutiert, die, in Anlehnung an das CuL_{py}1 Stammsystem, aus einer Kombination eines Heteroaromaten und einer Imin-Einheit bestehen. Als Heteroaromat wurde aufgrund des biomimetischen Aspektes Imidazol gewählt. Abschließend wird die Syntheseroute des symmetrischen Liganden Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan und dessen Kupfer(I)-Komplex beschrieben.

8.1.1 Synthesestrategien der Oxazolin-basierten Liganden L_{OL}1-4 (14, 25, 27, 29) und der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe (32-34)

Für die Darstellung des hydrolysestabilen Oxazolin-basierten Liganden 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (L_{OL}1, 14), wurde zunächst eine Synthesestrategie basierend auf den Arbeiten von HELMCHEN *et al.*^[175] entwickelt (Abbildung 8.1). Hierbei sollte das Ausgangsmolekül L-Histidinmethylesterdihydrochlorid (9) mit Benzoylchlorid (10) zu dem entsprechenden Amid 11 umgesetzt werden. Die selektive Reduktion der Ester-Funktion mit Natriumborhydrid (NaBH₄) bei -20 °C über 30 h zum Alkohol lieferte *N*-(1-Hydroxy-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propan-2-yl)benzamid (12). Im Anschluss sollte mit *para*-Toluolsulfonsäure die schlechte OH-Abgangsgruppe in eine gute Abgangsgruppe überführt werden, wodurch der anschließende Ringschluss zum Oxazolin ermöglicht wird. Die basische Abspaltung der Tosylatgruppe mit Natriumhydroxid stellt den letzten Syntheseschritt dar, welcher das

Produkt **LoL1 (14)** liefert. Die NMR-spektroskopische Untersuchung zeigte, dass trotz Variation der Reaktionszeit (24 h - 48 h) kein Ringschluss zu dem gewünschten Oxazolin **14** stattgefunden hat. In der Synthesevorschrift von HELMCHEN *et. al.* wurde statt Benzoylchlorid (**10**) 2-Fluorbenzoylchlorid verwendet. Der Fluor-Substituent weist einen ausgeprägten negativen induktiven Effekt (-I-Effekt) auf, welcher das Carbonyl-Kohlenstoffatom stärker partial positiviert als bei dem hier eingesetzten unsubstituierten Benzoylchlorid (**10**). Demnach ist der nukleophile Angriff der Alkohol-Funktion auf das Carbonyl-Kohlenstoffatom im Fall von HELMCHEN *et. al.* durch Substitution der Phenyl-Einheit begünstigt. Dies könnte die Problematik bei der Darstellung von **LoL1 (14)** erklären.

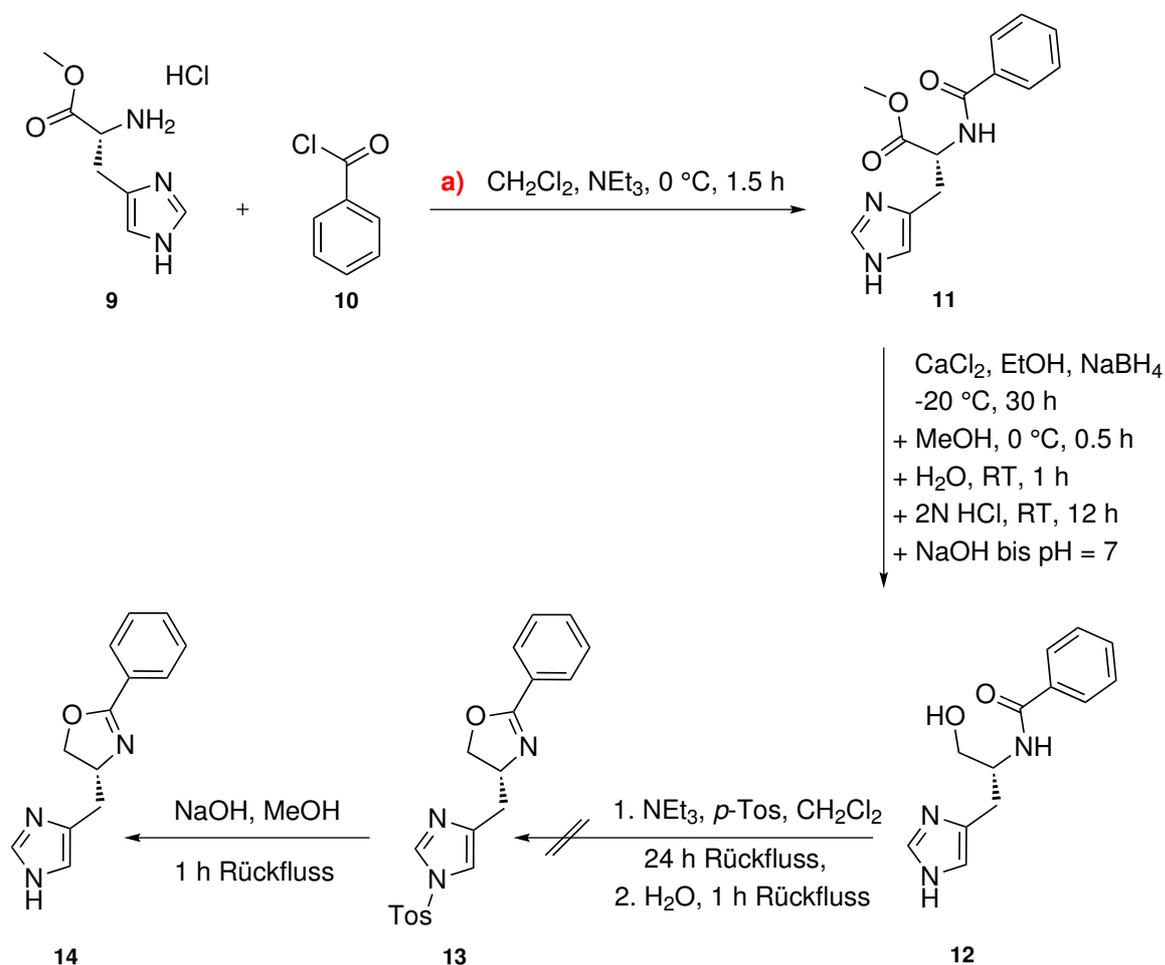


Abbildung 8.1: Syntheschema I, Route **a** zur Darstellung von **LoL1 (14)**.

Weit verbreitete Ausgangssubstanzen für die allgemeine Oxazolinsynthese stellen Aminoalkohole dar. Diese können anschließend mit einer Reihe von Edukten wie z. B.

Säurechloriden, Carbonsäuren, Nitrilen oder Imidaten zu den entsprechenden Oxazolinen umgesetzt werden.^[176] Da die Bandbreite an möglichen Reaktionen vielfältig ist, wurde zunächst der Aminoalkohol 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**) synthetisiert (Abbildung 8.2). Nach einer Vorschrift von GYNTHNER *et al.*^[177] wurde, ausgehend von L-Histidinmethylester-dihydrochlorid (**15**), die sekundäre und primäre Aminogruppe mit Triphenylmethylchlorid geschützt, um mögliche Nebenreaktionen im folgenden Schritt zu verhindern. Die Ester-Funktion des erhaltenen 2-(*R*)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenylmethyl)-imidazol-4(5)-yl]propanols (**16**) wurde selektiv durch Zugabe von Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH₄) zum primären Alkohol 2-(*R*)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenylmethyl)-imidazol-4(5)-yl]-propanol (**17**) reduziert. Die anschließende Entschützung verlief unter sauren Bedingungen durch die Behandlung mit Salzsäure für 2.5 h bei 80 °C, wodurch das gewünschte Produkt 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**) mit einer Gesamtausbeute von 81 % über alle Syntheseschritte erhalten wurde.

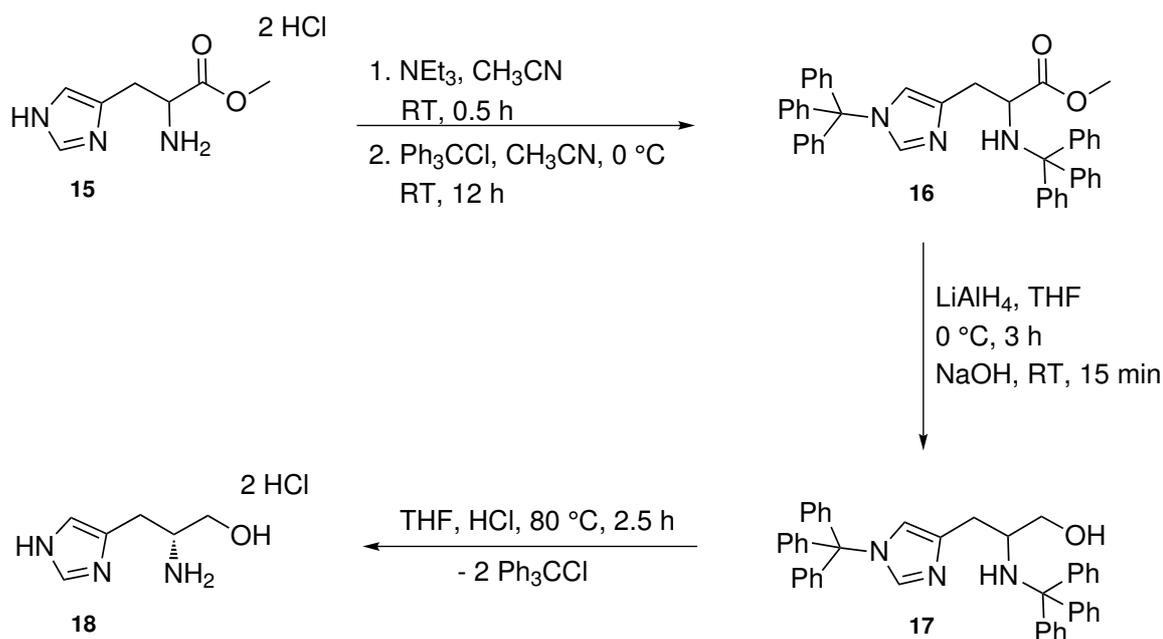


Abbildung 8.2: Syntheschema zur Darstellung von 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**).^[177]

Ausgehend von 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**), wurden vier unterschiedliche Synthesewege für die Darstellung von **Lol1** (**14**) entwickelt (Abbildung 8.3). Eine milde Eintopfsynthese ist durch den Einsatz von Carbonsäuren unter

Appel-Bedingungen möglich.^[178, 179] Hierfür wurde nach SMOLIAKOVA *et al.*^[180] der Aminoalkohol **18**, Tetrachlorkohlenstoff, Triethylamin und Benzoesäure (**19**) in einem Pyridin/Acetonitril-Gemisch gelöst, Triphenylphosphin hinzugefügt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt (Route **b**). Die Produktanalyse mittels NMR-Spektroskopie zeigte, dass mindestens sechs Produkte entstanden sind. Eine säulenchromatographische Auftrennung der unterschiedlichen Substanzen bestätigte, dass **Lol1** (**14**) nicht entstanden ist, so dass der Ansatz verworfen wurde.

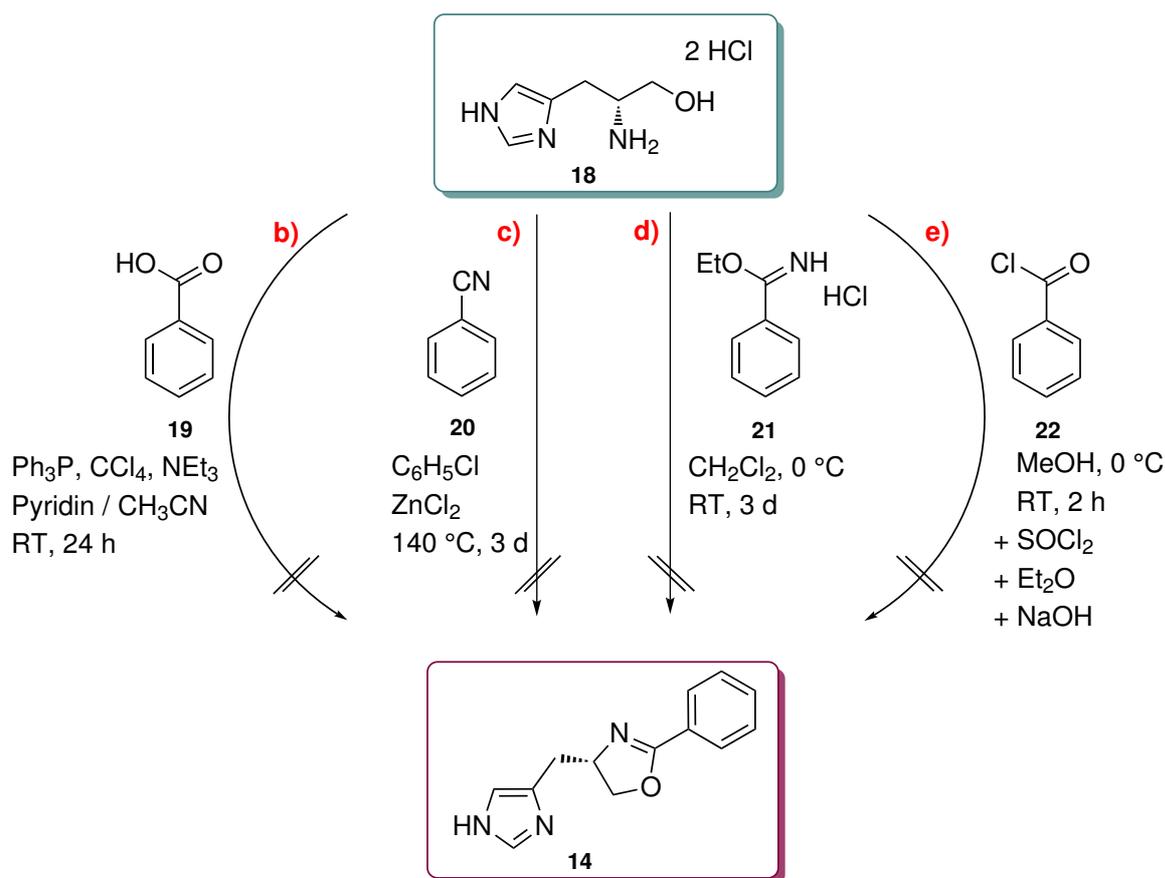


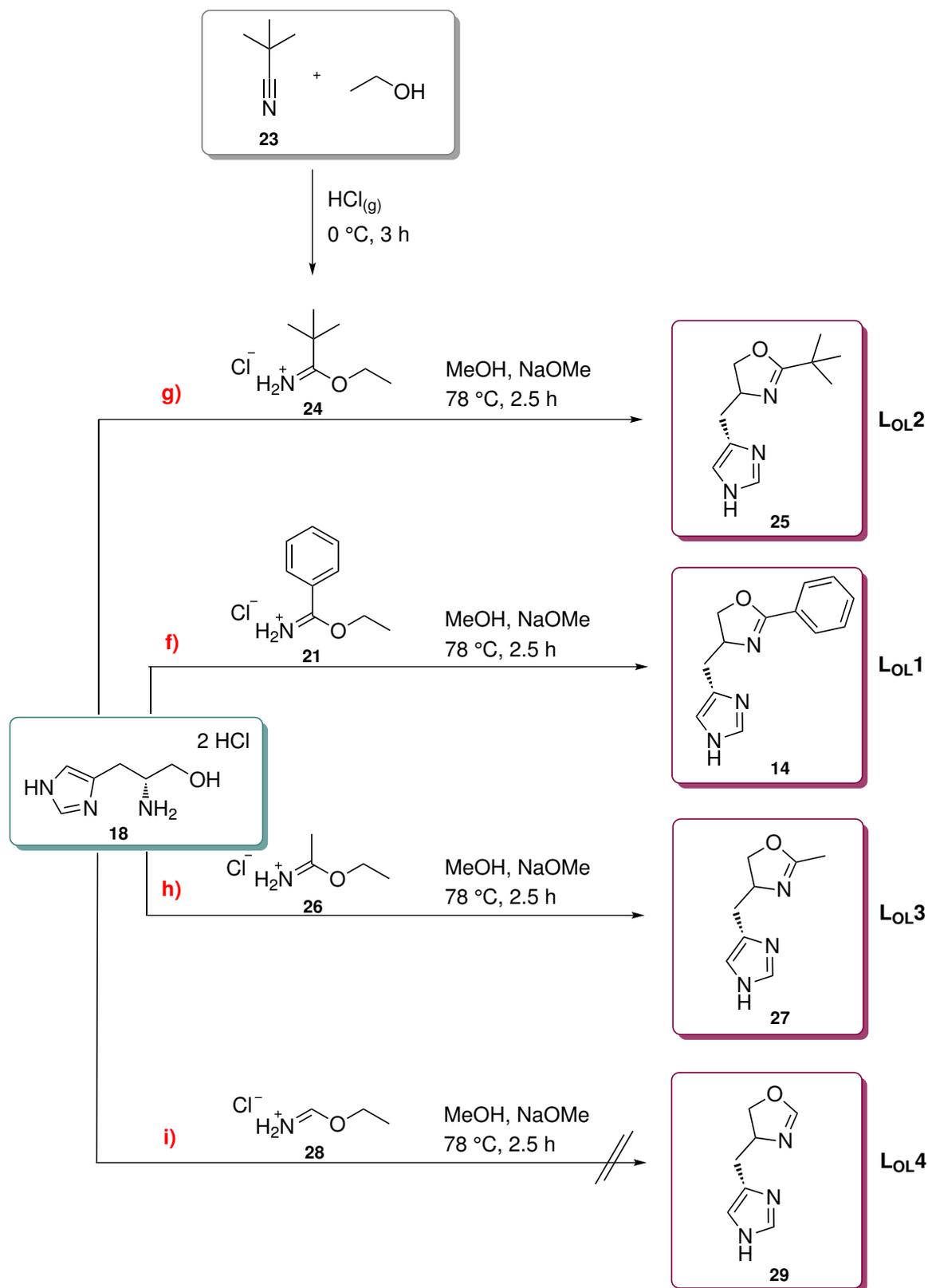
Abbildung 8.3: Syntheschema II, Route **b-e** zur Darstellung von **Lol1** (**14**).

Eine weitere Eintopfsynthese ist die Lewis-Säure katalysierte Kondensationsreaktion von Aminoalkoholen mit Nitrilen bei hohen Temperaturen.^[181] Nach einer weiteren Variante von SMOLIAKOVA *et al.*^[180] wurde zu dem Aminoalkohol 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**) Chlorbenzol, Benzonitril (**20**) und ZnCl_2 hinzugefügt und 3 d bei 140°C gerührt (Route **c**). Auch hier konnte keine Umsetzung zum Produkt beobachtet werden. Deshalb wurde eine Syntheseroute von MESHER *et al.*^[182] gewählt, um das gewünschte 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**) zu

synthetisieren (Route **d**). Der Aminoalkohol **18** wurde in Dichlormethan gelöst, auf 0 °C gekühlt und langsam mit Ethylbenzimidat-hydrochlorid (**21**) versetzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Die NMR-spektroskopische Untersuchung hat gezeigt, dass die Edukte unverändert vorlagen. Im ersten Schritt der Synthese greift die Aminogruppe des 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorids (**18**) nukleophil das Carbonyl-Kohlenstoffatom des Ethylbenzimidat-hydrochlorids (**21**) an wobei Wasser abgespalten wird. Unter den hier angegebenen Bedingungen scheint ein nukleophiler Angriff jedoch nicht begünstigt zu sein.

Ausgehend von dieser Erkenntnis, wurde eine weitere Synthesevariante durchgeführt. In der dreistufigen Methode **e** wurde nach einer variierten Syntheseroute von MIHELICH *et al.*^[183] die Hydroxygruppe von **18** zunächst in eine gute Abgangsgruppe überführt. Der Aminoalkohol 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**) wurde in Methanol gelöst, auf 0 °C gekühlt und langsam Benzoesäurechlorid (**22**) hinzugegeben. Hierbei findet zunächst ein nukleophiler Angriff der Aminogruppe von 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**) auf das partiell positiv geladene Carbonyl-Kohlenstoffatom statt, wobei 1 Äq. Salzsäure abgespalten wird. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch 2 h bei Raumtemperatur gerührt, Thionylchlorid (SOCl₂) hinzugefügt und mit kalter, 20 %-iger Natronlauge aufgearbeitet. Thionylchlorid generiert in diesem Schritt eine gute Abgangsgruppe, so dass 2 Äq. Salzsäure und 1 Äq. Schwefeldioxid freigesetzt werden. Die NMR-spektroskopische Untersuchung wies mehrere unterschiedliche Spezies auf. Jedoch konnte kein Hinweis auf die Anwesenheit von **Lol1** (**14**) gefunden werden.

Die Syntheserouten **b**, **c** und **e** in Abbildung 8.3 zeigten keine Umsetzung zum gewünschten 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**), sondern wiesen ausschließlich eine Reihe von unerwünschten Nebenprodukten auf, woraufhin diese Synthesevarianten verworfen wurden. Im Gegensatz hierzu zeigte Methode **d** keinerlei Umsetzung der Edukte und damit auch keine Nebenreaktion, so dass die Synthesebedingungen hierfür nochmal optimiert wurden (Abbildung 8.4).


 Abbildung 8.4: Syntheschema III, Route **f-i** zur Darstellung von **Lol1-4** (**14**, **25**, **27**, **29**).^[184]

Neben der bereits diskutierten Synthesestrategie (Abbildung 8.3), Aminoalkohole mit Imidaten umzusetzen, wurden bei den in Abbildung 8.4 beschriebenen Reaktionen beide Komponenten in Methanol gelöst und in Anwesenheit von Natriummethanolat (NaOMe), welches als starke Base fungiert, 2.5 h unter Rückfluss erhitzt.^[185, 184] Da sich Natriummethanolat durch Einwirkung von Wasser zersetzt, wurde mit getrockneten Lösungsmitteln unter Stickstoffatmosphäre gearbeitet. Die Darstellung von **LoL1** (**14**), ausgehend von Ethylbenzimidat-hydrochlorid (**21**), ist maßgeblich von der Reaktionszeit abhängig (Route **f**). Es wurden unterschiedliche Reaktionszeiten zwischen 2 h und 7 d untersucht, um die Bildung von Nebenprodukten zu verhindern. Schlussendlich konnte gezeigt werden, dass der Anteil von 5-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**LoL1**^{*}, **30**) umso größer ist, je länger die Reaktion andauert (Abbildung 8.5). Das isomerenreine Produkt **LoL1** (**14**) konnte nach 2.5 h erhalten werden, nachdem es mit einer wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung aufgearbeitet wurde.

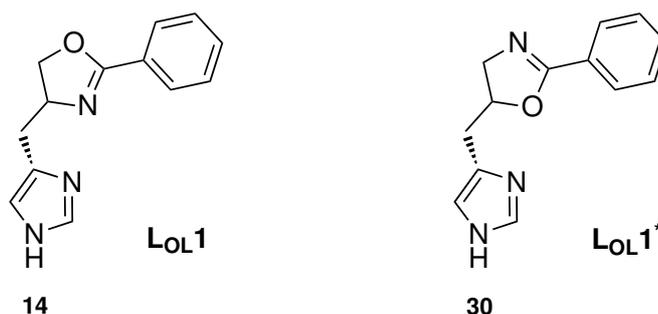


Abbildung 8.5: Detektiertes Isomer **LoL1**^{*} (**30**) bei der Darstellung von **LoL1** (**14**).

Auf Basis dieser Synthesebedingungen, wurden die Liganden 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)-methyl)-2-(*tert*-butyl)-4,5-dihydrooxazol (**LoL2**, **25**) und 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-methyl-4,5-dihydrooxazol (**LoL3**, **27**) mit den Imidaten Ethylacetimidat-hydrochlorid (**21**) und *tert*-Butylimidsäureethylester-hydrochlorid (**24**) synthetisiert (Route **g** und **h**). Da das eingesetzte Edukt *tert*-Butylimidsäureethylester-hydrochlorid (**24**) nicht kommerziell erwerblich war, wurde dieses nach einer Vorschrift von ALLMANN *et al.*^[186] hergestellt. Hierfür wurde Trimethylacetonitril (**23**) in abs. Ethanol vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Aus Schwefelsäure und Natriumchlorid wurde Chlorwasserstoff-Gas erzeugt, welches für 3 h in die ethanolische Reaktionslösung eingeleitet wurde. Die farblosen Kristalle des Produktes **24** wurden mit einer Ausbeute von 11 % erhalten. Es war essentiell, dass für jeden Reaktionsansatz eine ungeöffnete Flasche Schwefelsäure verwendet wurde und dass

das erzeugte Chlorwasserstoff-Gas vor dem Einleiten in die Reaktionslösung zur Trocknung durch Schwefelsäure geleitet wurde. Die Reaktion verlief nur dann erfolgreich, wenn sowohl das Chlorwasserstoff-Gas als auch das verwendete Ethanol komplett wasserfrei waren, da der Imidsäureethylester **24** sehr hydrolyselabil ist.

Die Synthese des unsubstituierten Oxazolin-basierten Liganden 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-4,5-dihydrooxazol (**LoL4**, **29**) war jedoch unter den hier evaluierten Bedingungen nicht erfolgreich (Route **i**).^[187] Einen alternativen Zugang zu dem Liganden **LoL4** (**29**) lieferte eine Vorschrift von KAMATA *et al.*^[188]. Hierbei sollte durch Zugabe von Triethylorthoformiat (**31**) und Trifluoressigsäure 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**LoL4**, **29**) gebildet werden (Abbildung 8.6, Route **j**). Da auch diese Synthesevariante nicht zum Zielliganden **29** führte, wurden die in den folgenden Kapiteln durchgeführten Untersuchungen mit den Liganden **LoL1-3** (**14**, **25**, **27**) vollzogen.

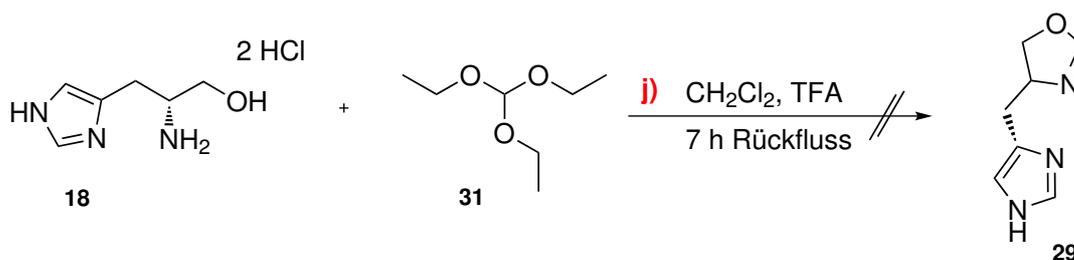


Abbildung 8.6: Syntheseroute **j** zur Darstellung von **LoL4** (**29**).

Die Komplexsynthese der erfolgreich dargestellten Oxazolin-basierten Liganden **LoL1-3** (**14**, **25**, **27**) erfolgte unter inerten Bedingungen, indem Tetrakis(acetonitril)-kupfer(I)hexafluorophosphat in Acetonitril vorgelegt und langsam eine Lösung aus dem zu komplexierenden Liganden (**LoL1-3**) hinzugegeben wurde (Abbildung 8.7). **CuLoL1** (**32**) wurde als gelbes, kristallines Pulver erhalten, während **CuLoL2-3** (**33**, **34**) als farblose Feststoffe erhalten wurden. Die Reihenfolge, in der die Edukte eingesetzt wurden, hatte einen maßgeblichen Einfluss auf die Produktbildung. Somit war es essentiell, das Kupfer(I)-Salz vorzulegen und erst dann den Liganden langsam hinzuzutropfen, da eine Umkehrung der Reihenfolge zu einem erheblichen Anteil der entsprechenden homoleptischen Kupfer(II)-Komplexe [Cu(II)(**LoL1-3**)₂](PF₆)₂ führte, welche sich durch eine blaue Färbung auszeichneten.

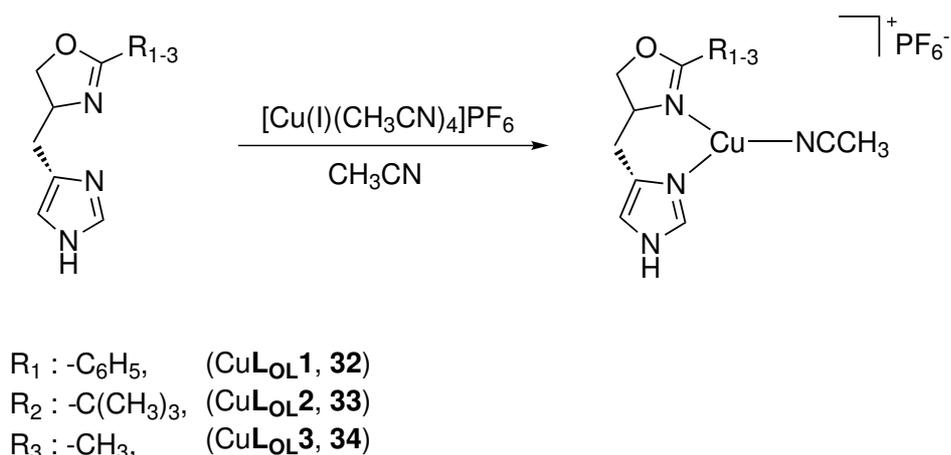


Abbildung 8.7: Syntheschema zur Darstellung von CuL_{OL}1-3 (**32-34**).

Anders als das Stammsystem CuL_{py}1 weisen die Kupfer(I)-Komplexe CuL_{OL}1-3 (**32-34**) nur ein Acetonitrilmolekül als Co-Ligand auf, womit das Zentralatom dreifach und nicht vierfach koordiniert vorliegt.

8.1.2 Synthesestrategien zur Darstellung Imidazol/Imin-basierter Modellsysteme und der entsprechenden Kupfer(I)-Komplexe

8.1.2.1 Synthesestrategien für die Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylproylden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**39**)

Das Stammsystem L_{py}1, welches die Basis für die Entwicklung der Struktur von *N*-(2,2-Dimethylproylden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**39**) darstellt, besteht wie bereits oben erwähnt aus einer Pyridin-Einheit, welche über eine Ethylbrücke mit einer Imin-Funktion verknüpft ist und dessen endständige Gruppe eine *tert*-Butylgruppe darstellt. Der Heteroaromat sollte nun durch eine biomimetischere Imidazol-Einheit substituiert werden. Ausgehend von einer Patentvorschrift von TANAKA *et al.*^[189], sollte 1-Methylimidazol (**35**) mit *n*-Buthyllithium in 2-Position durch Abspaltung von Bromwasserstoff mit dem Boc-geschützten 2-Bromethylamin (**36**) bei -78 °C in abs. Tetrahydrofuran funktionalisiert werden (Abbildung 8.8, Route **α**). Es zeigte sich, dass

keine Umsetzung zu dem Zwischenprodukt *N*-(2,2-Dimethylproylyden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**37**) stattgefunden hatte, so dass Route α verworfen wurde.

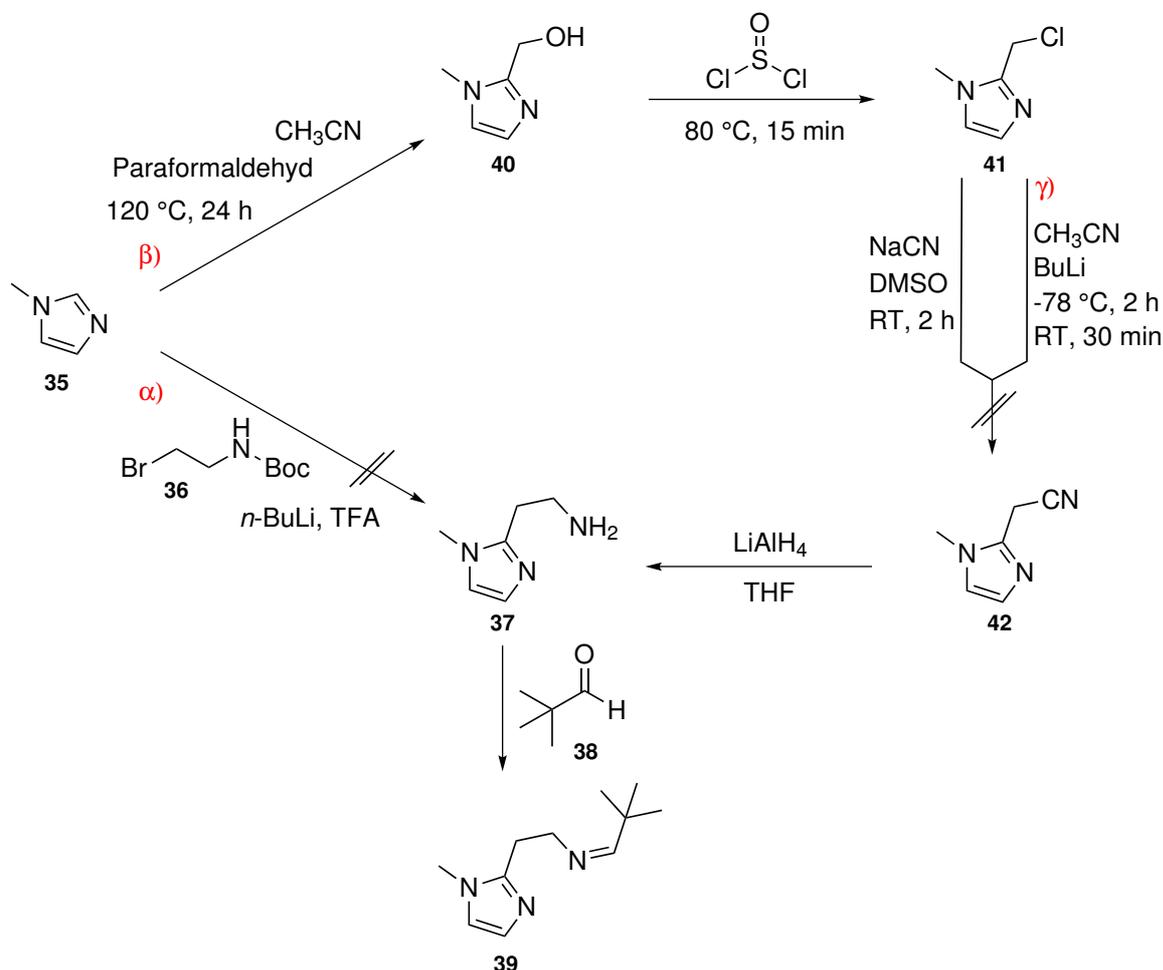


Abbildung 8.8: Syntheschema I, zeigt die Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylproylyden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**39**) auf drei verschiedenen Syntheserouten (Route α - γ).

Ein weiterer Syntheseweg für die Darstellung des Zielliganden **39**, ausgehend von 1-Methylimidazol (**35**), stellt die Reaktion mit Paraformaldehyd in Acetonitril unter Verwendung eines Dampfdruckgefäßes dar (Abbildung 8.8, Route β). Bei Temperaturen von $120\text{ }^\circ\text{C}$ und hohem Druck fand die Reaktion zum 1-Methyl-2-hydroxymethylimidazol (**40**) mit einer Ausbeute von 80 % nach 24 h statt (Route: β). Die Funktionalisierung in 2-Position verlief selektiv, da diese die CH-azideste Stelle des Imidazol-Fünfrings darstellt. Der zweite Syntheseschritt beinhaltete die Umwandlung der Hydroxygruppe, welche eine vergleichsweise schlechte Abgangsgruppe darstellt, in ein reaktiveres Chlorid. Hierfür wurde, basierend auf einer Reaktionsvorschrift von DAI *et*

al.^[190], Thionylchlorid auf 0 °C gekühlt und langsam 1-Methyl-2-hydroxymethylimidazol (**40**) hinzugefügt, wobei gasförmiges Chlorwasserstoff freigesetzt wurde. Anschließend wurde 15 min unter Rückfluss erhitzt, wobei 2-Chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazol-hydrochlorid (**41**) mit einer Ausbeute von 88 % erhalten wurde. Im darauffolgenden Syntheseschritt sollte die Methyleinheit durch Einfügen einer Nitril-Funktion um ein Kohlenstoffatom erweitert werden. Für die Umsetzung zum Nitrilderivat 2-(1-Methyl-1*H*-imidazol-2-yl)acetonitril (**42**) wurde ebenfalls nach einer Vorschrift von DAI *et al.*^[190] verfahren. Bei der entwickelten Kolbe-Nitrilsynthese handelt es sich um eine S_N2-Reaktion, die vorzugsweise in aprotischen, polaren Lösungsmitteln abläuft und daher Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel gewählt wurde. Das eingesetzte Nukleophil Natriumcyanid soll durch Angriff des Kohlenstoffatoms unter Bildung von Natriumchlorid zu **42** reagieren. Da Cyanide ambidente Nukleophile sind, kann es auch zur Bildung von Isonitrilen kommen. Es ist jedoch bekannt, dass bei Verwendung von Alkalicyaniden, wie im vorliegenden Fall, die Reaktion immer nach einem S_N2-Mechanismus verläuft und somit das unerwünschte Nebenprodukt vermieden wird.^[191] Sowohl die Kolbe-Nitrilsynthese als auch die alternative Syntheseroute γ ^[192], welche die Reaktion von 2-Chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazol-hydrochlorid (**41**) mit *n*-Buthyllithium in Acetonitril darstellt, führten nicht zu dem gewünschten Nitril **42**. 2-(1-Methyl-1*H*-imidazol-2-yl)acetonitril (**42**) sollte anschließend mit Lithiumaluminiumhydrid zum primären Amin 2-(1-Methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethylamin (**37**) reduziert werden. Im letzten Syntheseschritt sollte eine Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**38**) zum Zielliganden **38** führen.

Um die entstandene Problematik bei dem Versuch eine Nitril-Funktion einzuführen zu umgehen, wurde eine alternative Synthesestrategie, ausgehend von 1,2-Dimethylimidazol (**43**), ausgearbeitet (Abbildung 8.9). Nach einer Vorschrift von LEE *et al.*^[193] wurde das zweifach substituierte Imidazol 1,2-Dimethylimidazol (**43**) mit Paraformaldehyd, in einem Gemisch aus Acetonitril und Dimethylformamid, in einem Dampfdruckgefäß bei 130 °C für 24 h zur Reaktion gebracht. Das gewünschte Zwischenprodukt 1-Methyl-2-(hydroxyethyl)imidazol (**44**) konnte mit einer Ausbeute von 65 % erhalten werden.

Die anschließende Überführung des primären Alkohols **44** in 2-(2-Bromoethyl)-1-methyl-1*H*-imidazol (**45**) erfolgte nach FOOTE *et al.*^[194] Die Syntheseroute **8**, welche eine

der zweite Bromierungsversuch fehl, da eine Vielzahl von Produkten entstanden ist, die nicht voneinander getrennt werden konnten, woraufhin Route **ε** ebenfalls verworfen wurde.

Die bromierte Spezies **45** sollte im darauffolgenden Syntheseschritt mit Natriumazid zu 1-Methyl-2-(azidoethyl)imidazol (**46**) umgesetzt werden. Der vierte Syntheseschritt stellt die Palladium-katalysierte Reduktion der Azid-Funktion zu dem primären Amin mit Wasserstoff in Methanol dar und die anschließende Schützung des primärenamins mit Di-*tert*-butyldicarbonat zum Boc-geschützten Amin *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-ethyl)carbammat (**47**). Nach erfolgter säulenchromatographischer Aufreinigung, die durch das Einführen der Boc-Schutzgruppe erleichtert wird, sollte diese im fünften Syntheseschritt durch Trifluoressigsäure sauer abgespalten werden. Das freie Amin **37** sollte danach in einer Kondensationsreaktion mit Trimethylacetaldehyd (**38**) zu dem Zielliganden *N*-(2,2-Dimethylproylden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**39**) umgesetzt werden.

Eine weitere Möglichkeit das primäre Amin **37** zu erhalten, ohne dass hier die Notwendigkeit besteht, den Alkohol bromieren zu müssen, wurde anhand der Vorschrift von STRIEGEL *et al.*^[197] entwickelt. Hierbei sollte 1-Methyl-2-(hydroxyethyl)imidazol (**44**) mit Triphenylphosphin und Kaliumphthalimid (**48**), gelöst in Tetrahydrofuran und Diisopropylazodicarboxylat (DIAD), laut dem Mechanismus der Mitsunobu-Reaktion reagieren (Route **ζ**).^[195] Das Phtalimidderivat **49** konnte auf diesem Weg jedoch nicht erhalten werden, stattdessen ist das Nebenprodukt **51** isoliert worden (Abbildung 8.10).^[195]

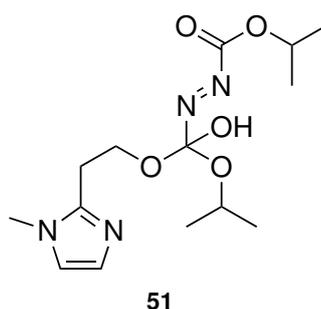


Abbildung 8.10: Isoliertes Produkt **51** der Syntheseroute **ζ** aus Abbildung 8.9.

Die Erzeugung eines Phtalimids als gängige Methode zur Darstellung eines primärenamins sollte deshalb durch Veränderung der Synthesebedingungen ermöglicht werden. Um die Reaktivität des Alkohols **44** zu erhöhen, wurde analog zu der Darstellung des oben

beschriebenen 2-Chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazol-hydrochlorids (**41**) (Abbildung 8.8) zunächst die Hydroxygruppe unter Abspaltung von Chlorwasserstoff und Schwefeldioxid mittels Thionylchlorid chloriert und somit 2-Chloroethyl-1-methyl-1*H*-imidazol-hydrochlorid (**50**) erhalten. Im nächsten Reaktionsschritt sollte nach einer angepassten Synthesevorschrift von GOLDBERG *et al.*^[198] das chlorierte Imidazol **50** und Kaliumphthalimid (**48**) in Dimethylformamid 1 h bei 156 °C erhitzt werden (Route **η**). Trotz Erhöhung der Reaktivität durch die erfolgreiche Substitution der Hydroxygruppe gegen eine Chloridgruppe, konnte keine Umsetzung zum gewünschten Phthalimidderivat **49** erreicht werden. Durch anschließende Reaktion mit Hydrazin-monohydrat sollte das primäre Amin 2-(1-Methyl-1*H*-imidazol-4-*y*-)ethanamin (**37**) freigesetzt werden, welches dann im letzten Schritt einer Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**39**) zum Produkt **39** unterzogen werden sollte.

Neben den in Abbildung 8.9 gezeigten Routen **ζ** und **η**, die eine Synthese des phthalimidgeschützten Amids **49** nicht ermöglichten, gibt es eine weitere Methode das Phthalimidderivat **49** zu erhalten. Hierbei wurde Phthalimid (**52**) durch Zugabe von Acrylnitril (**53**) und Kaliumphthalimid (**48**), nach Erhitzen unter Rückfluss für 3 h, zu β -Phthalimidopropionitril (**54**) umgesetzt (Abbildung 8.11).^[195] Diese Herangehensweise basiert auf einer Vorschrift von LUGTENBURG *et al.*^[199] Im zweiten Reaktionsschritt sollte anhand einer literaturbekannten Synthese von SCHUNACK *et al.*^[200] Phthalimidopropionitril (**54**) in abs. Methanol gelöst werden, um durch Einleiten von Chlorwasserstoff-Gas eine Fällung von β -Phthalimidopropionimidsäuremethylester-hydrochlorid (**55**) zu erzielen. Die vergleichsweise geringe Löslichkeit von β -Phthalimidopropionitril (**54**) in Methanol stellte einen limitierenden Faktor der Reaktionsansatzgröße dar. Nach Einengen der Lösung konnte eine Fällung von β -Phthalimidopropionimidsäuremethylester-hydrochlorid (**55**) mit einer Ausbeute von 45 % erzielt werden. Der nachfolgende Ringschluss zum Imidazol wurde auf zwei unterschiedlichen Routen versucht (Route **9**, **ι**). Die Reaktionslösung der ersten Variante wurde mit dem Reagenz Methylaminoacetaldehyddimethylacetal (**56**) 3 h bei Raumtemperatur gerührt (Route **9**). Jedoch führte auch eine Verlängerung der Reaktionszeit nicht zu dem gewünschten 1-Methyl-2-(2-phthalimidoethyl)-imidazol-hydrochlorid (**49**). Trotz Verwendung von wasserfreien Lösungsmitteln, fand eine Hydrolyse des Phthalimidopropionimidsäuremethylester-hydrochlorids (**55**) zur entsprechenden Phthalimidopropionsäure statt.

Bei der Syntheseroute **1** wurde nach einer literaturbekannten Vorschrift von CARRITY *et al.*^[201] verfahren. Hierfür wurde das Reagenz Methylaminoacetaldehyddimethylacetal (**56**) durch 2-(Methylamino)-methyl-1,3-dioxolan (**57**) ersetzt. Es zeigte sich, dass diese Synthesevariante keine Umsetzung zu dem gewünschten Zwischenprodukt **49** erlaubte, da die Edukte unverändert vorlagen.

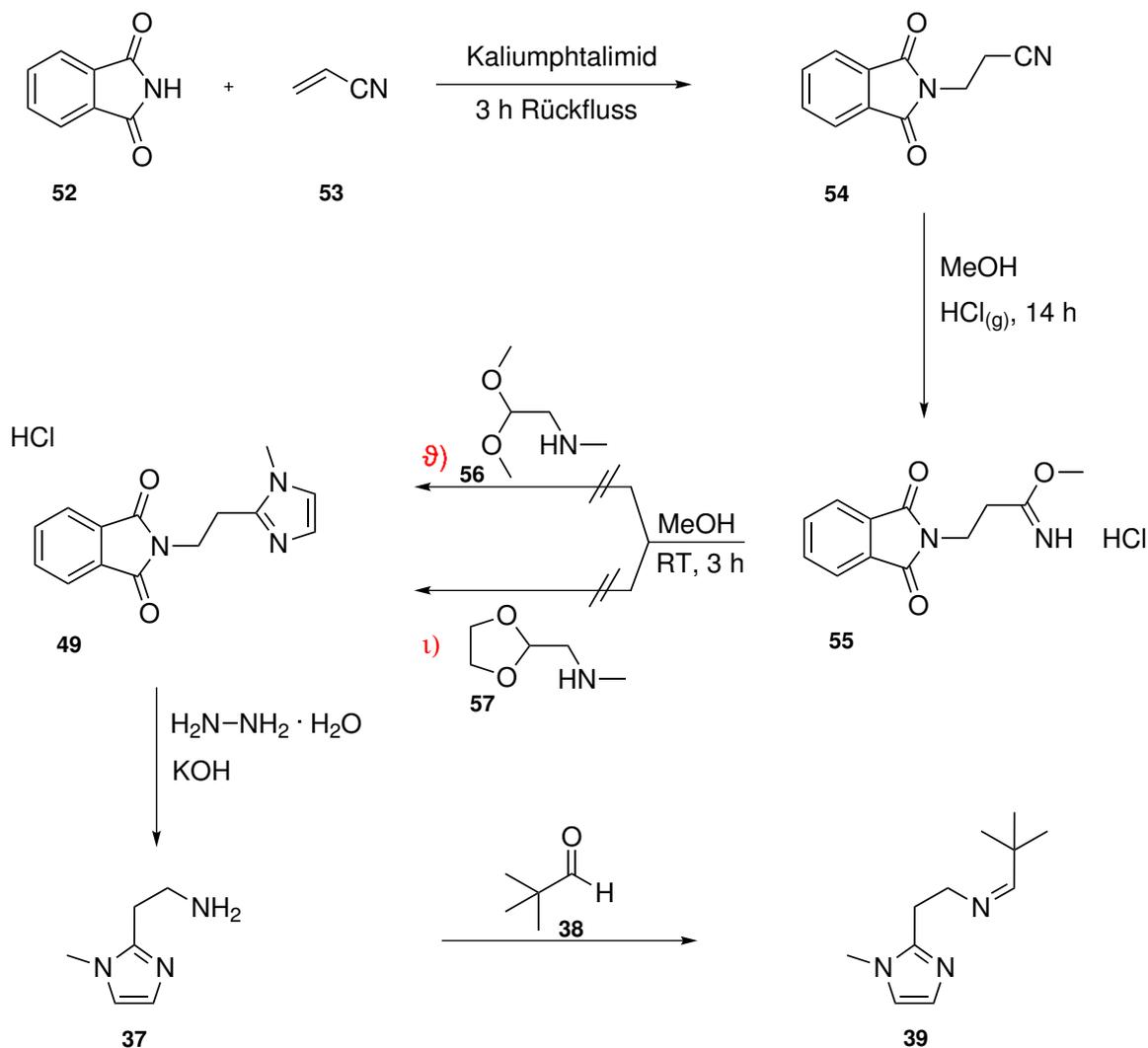


Abbildung 8.11: Syntheschema III zeigt die Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**39**) auf zwei verschiedenen Syntheserouten (Route **9**, **1**).

8.1.2.2 Synthesestrategien zur Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylproylden)-2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**61**)

Durch die vorangegangenen Reaktionen aus Kapitel 8.1.2.1 hat sich herauskristallisiert, dass 1-Methylimidazol (**35**) eine sehr geringe Löslichkeit in aprotischen, organischen Lösungsmitteln besitzt. Um diese Problematik zu umgehen, wurden die nachfolgenden Synthesen ausschließlich mit 1-Ethylimidazol durchgeführt. Diese Überlegung ebnete zudem einen Weg für eine neue Synthesevariante (Abbildung 8.12).

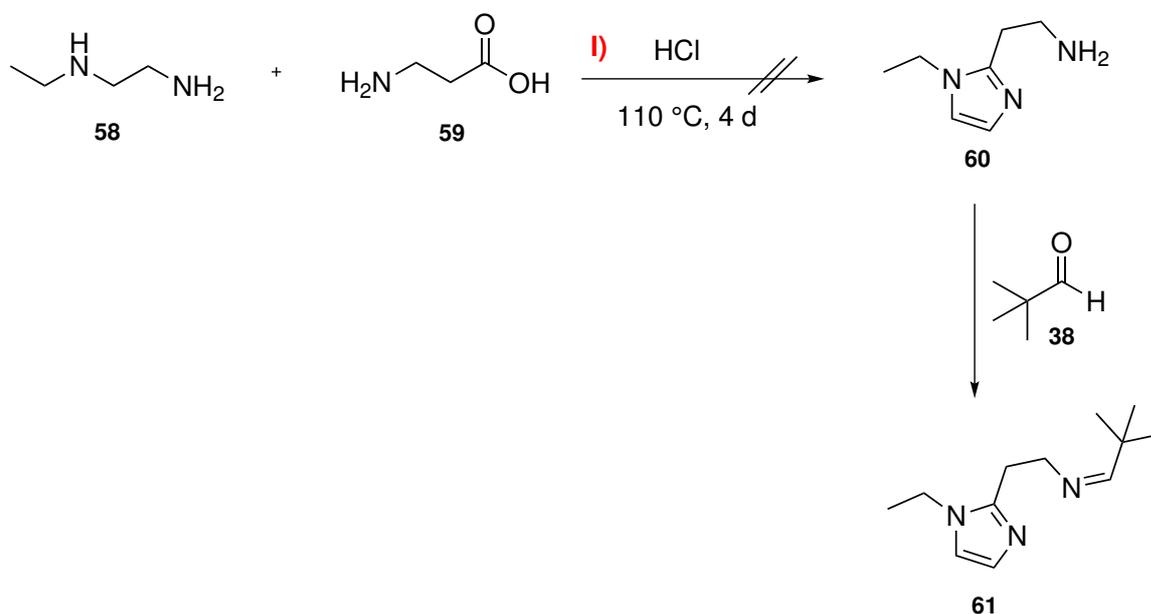


Abbildung 8.12: Syntheschema I zur Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylproylden)-2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**61**) (Route **I**).

Route **I** zeigt eine Synthesestrategie, die in einer einstufigen Synthese, ausgehend von *N*-Ethylethylenediamin (**58**) und β -Alanin (**59**), das primäre Amin 2-(1-Ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**60**) ergeben soll. Durch die anschließende Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**38**) soll das gewünschte *N*-(2,2-Dimethylproylden)-2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**61**) erhalten werden. Der erste Reaktionsschritt zeigte jedoch keine Umsetzung zum primären Amin **60**. Es wird vermutet, dass *N*-Ethylethylenediamin (**58**) nicht nukleophil genug für den Angriff an das Carbonyl-Kohlenstoff ist.

Die Synthesestrategie II, welche in Abbildung 8.13 gezeigt ist, weist Ähnlichkeiten zur bereits beschriebenen Route **α** in Kapitel 8.1.2.1 (Abbildung 8.8) auf. Wie oben erläutert, fand keine Umsetzung von 1-Methylimidazol (**35**) mit dem Boc-geschützten 2-Bromethylamin (**36**) statt (Abbildung 8.8, Route **α**). Um eine Reaktion von 1-Ethylimidazol (**63**) zu begünstigen, wurde in der hier beschriebenen Variante nach TANAKA *et al.*^[189] statt des Boc-geschützten 2-Bromethylamins **36** (Abbildung 8.8) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)glycime-*N*^c-methoxy-*N*^c-methyramid (**62**) eingesetzt. Die Carbonylgruppe stellt hierbei eine bessere Abgangsgruppe dar als das in Abbildung 8.8 gezeigte Brom des Boc-geschützten 2-Bromethylamins **36**. Die Deprotonierung von 1-Ethylimidazol (**63**) mit *n*-Buthyllitium bei -78 °C in Tetrahydrofuran erlaubt einen nukleophilen Angriff an das Carbonyl-Kohlenstoff von **62**. Die Carbonyl-Funktion des erhaltenen *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbamats (**64**) sollte zunächst, in Anlehnung an eine Vorschrift von MINCHIN *et al.*^[202], mit Kaliumhydroxid und Hydrazin-monohydrat in Diethylenglycol bei hohen Temperaturen (4 h bei 110 °C, 18 h bei 210 °C) zu dem Zwischenprodukt **65** reduziert werden (Route **II**). Im dritten Reaktionsschritt sollte dann die Boc-Schutzgruppe sauer abgespalten werden. Die anschließende Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**38**) sollte im letzten Reaktionsschritt der Reaktionsfolge zum Zielliganden **61** führen. Die NMR-spektroskopische Analyse der Reduktion mit Hydrazin-monohydrat ergab mehrere Imidazolspezies. Das Zwischenprodukt **65** konnte jedoch nicht gefunden werden, woraufhin auch dieser Syntheseweg verworfen wurde.

Die Syntheserouten **III** und **IV** stellen zwei weitere Möglichkeiten für die Synthese von 2-((2,2-Dimethylpropyliden)amino)-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**67**) dar. Hierbei sollte die Entschützung von **64** ohne vorherige Reduktion des Ketons stattfinden und im Anschluss eine Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**38**) zu 2-((2,2-Dimethylpropyliden)amino)-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**67**) durchgeführt werden. Die Abspaltung der Schutzgruppe konnte mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Trifluoressigsäure (2 : 1) bei Raumtemperatur innerhalb von 3.5 h vollständig erzielt werden (Route **IV**). Bei der Route **III** wurde methanolische Salzsäure verwendet, was nicht zur selektiven Entschützung von **64** führte. Die anschließende Iminkondensation von **66** war jedoch nicht erfolgreich, so dass auch diese Synthesestrategie nicht weiter verfolgt wurde.

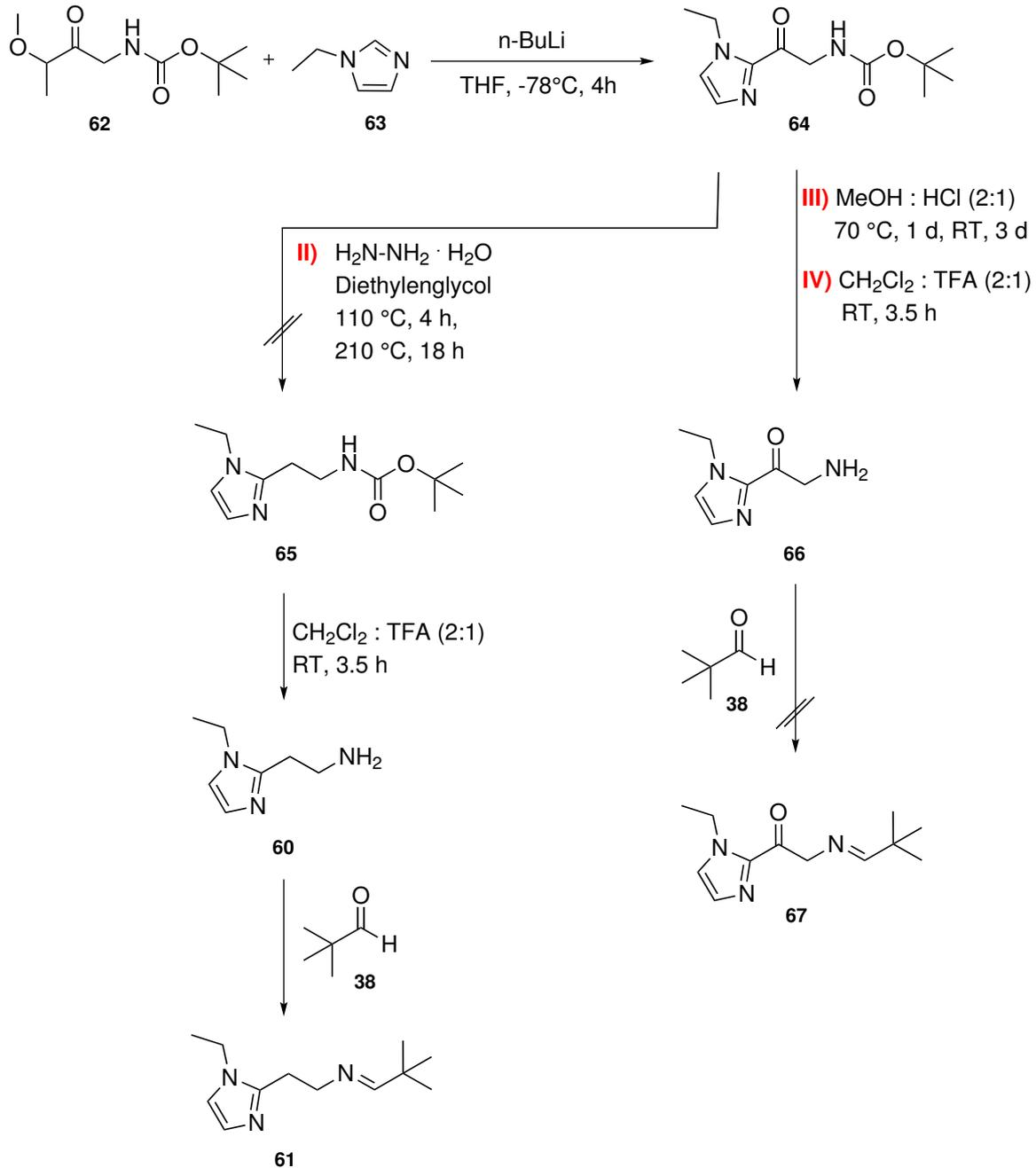


Abbildung 8.13: Syntheschema II zur Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**61**) bzw. 2-((2,2-Dimethylpropyliden)amino)-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**67**) (Route **II-IV**).

Alle bis zu diesem Zeitpunkt beschriebenen Synthesestrategien haben nicht zu dem Zielliganden *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**39**) bzw. *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**61**) geführt. Die Aminosäure Histamin, welche als Dihydrochlorid kommerziell erwerblich ist, entspricht der Grundstruktur des unsubstituierten, primären Amins. Allerdings ist Histamin für eine

Iminkondensation nicht geeignet, da das Reagenz ausschließlich in sehr polaren Lösungsmitteln wie z. B. Wasser löslich ist. Es hat sich in vorangegangenen Studien gezeigt, dass selbst eine Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**38**) nicht die gewünschte Löslichkeit in Dichlormethan liefert.^[203] Die scheinbar einfache Einführung eines Alkylrestes, wie beispielsweise einer Ethylgruppe, würde die Löslichkeit erhöhen. Hierbei ist jedoch zu bedenken, dass eine direkte Ethylierung von Histamin-dihydrochlorid (**68**) aufgrund der Tautomerie des Imidazolrings zu zwei unterschiedlichen Produkten führen kann (Abbildung 8.14).

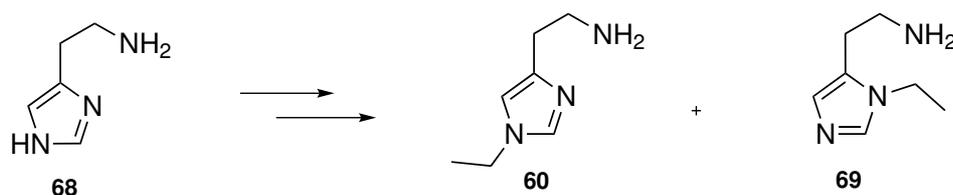


Abbildung 8.14: Dargestellt sind die möglichen Produkte **60** und **69** durch Tautomerisierung des Imidazolrings bei dem Versuch eine Ethylgruppe in 1-Position des Histamins **68** einzuführen.

Da nur das 1,4-substituierte Produkt 2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**60**) nach erfolgreicher Iminkondensation und anschließender Komplexierung für die Tyrosinase- und Catechol-Oxidase-Reaktion geeignet ist, wurde eine Variation der Syntheseroute von WENDLER *et al.*^[204] durchgeführt, die es ermöglichen sollte, das sekundäre Amin des Histamin-dihydrochlorids (**68**) zu alkylieren, um selektiv das 1,4-substituierte Produkt **60** zu erhalten (Abbildung 8.15).

Im ersten Schritt wurde zunächst das primäre Amin **68** selektiv mit Ethyltrifluoroacetat (**70**) geschützt, damit eine selektive Alkylierung am sekundären Amin des Imidazolrings stattfinden konnte (Abbildung 8.15, Route **V**). Hierfür wurde die Aminosäure **69** nach dem US-Patent von GARIBAY *et al.*^[205] in Methanol vorgelegt und mit 3 Äq. Triethylamin deprotoniert. Die Zugabe von 1 Äq. Ethyltrifluoroacetat (**70**) bei 0 °C und anschließendes Rühren bei Raumtemperatur für 3.5 h lieferte *N*-(2-(1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)-2,2,2-trifluoroacetamid mit einer Ausbeute von 48 %, wobei Triethylammoniumchlorid und Ethanol als Nebenprodukte der Synthese anfallen. Das Zwischenprodukt wurde anschließend in Tetrahydrofuran suspendiert und zur Deprotonierung mit 60 %-igem Natriumhydrid versetzt. Abschließend wurde Ethyliodid hinzugefügt. Aufgrund der

schlechten Löslichkeit fand keine Reaktion zum gewünschten Amin 2-(1-Ethyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**71**) statt. Auch die Reaktion in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Methanol zeigte keine Produktbildung.

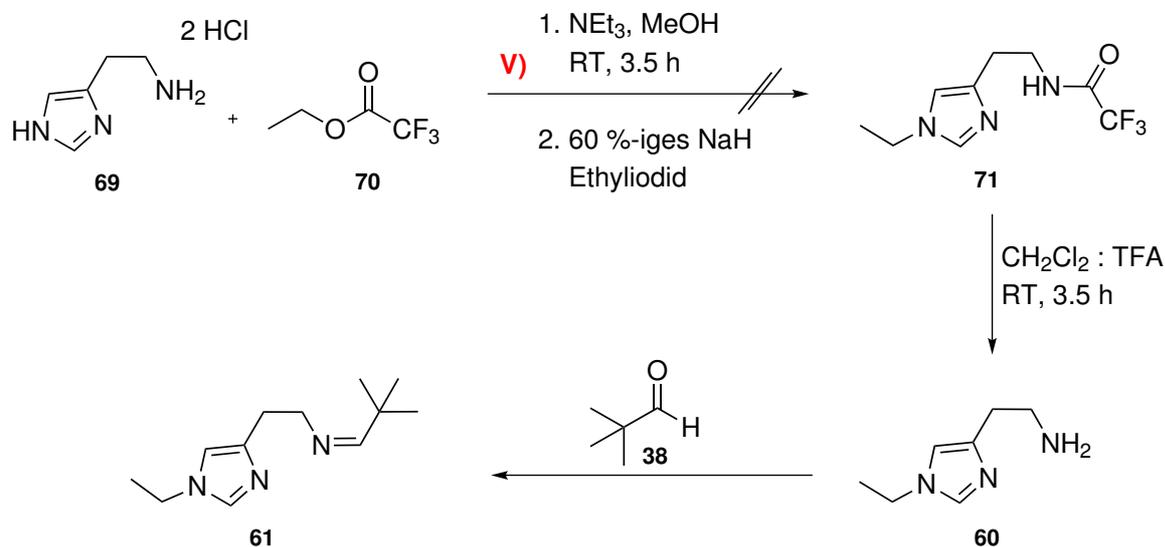


Abbildung 8.15: Syntheschema III für die Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanamin (**61**) (Route **V**).

8.1.2.3 Synthesestrategie zur Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**Limz1**, **74**) und des korrespondierenden Kupfer(I)-Komplexes (**75**)^[184]

Aufgrund der in Kapitel 8.1.2.2 beschriebenen Tautomerisierung des Imidazolrings und der damit verbundenen Problematik von Produktgemischen, welche sich nur unter erheblichem Aufwand voneinander trennen lassen, musste ein Substituent gefunden werden, der einerseits die Löslichkeit des Liganden für die darauffolgenden Tyrosinase- bzw. Catechol Oxidase-Reaktionen in Dichlormethan erhöht und andererseits regioselektiv das 1,4-substituierte Produkt liefert. Eine geeignete Herangehensweise stellt die Einführung einer Triphenylmethyl-Einheit (Trityl) dar, welche aufgrund des sterischen Anspruches ausschließlich das gewünschte 1,4-Produkt bildet.

Nach einer Patentvorschrift von GARIBAY *et al.*^[205] wurde, analog zur bereits beschriebenen Strategie in Abbildung 8.15, Histamin-dihydrochlorid (**69**) mit 3 Äq. Triethylamin

deprotoniert und anschließend 1 Äq. Ethyltrifluoroacetat (**70**) zur selektiven Schützung der primären Amin-Funktion bei 0 °C hinzuge tropft, wobei Triethylammoniumchlorid und Ethanol als Nebenprodukte der Synthese entstanden sind (Abbildung 8.16).

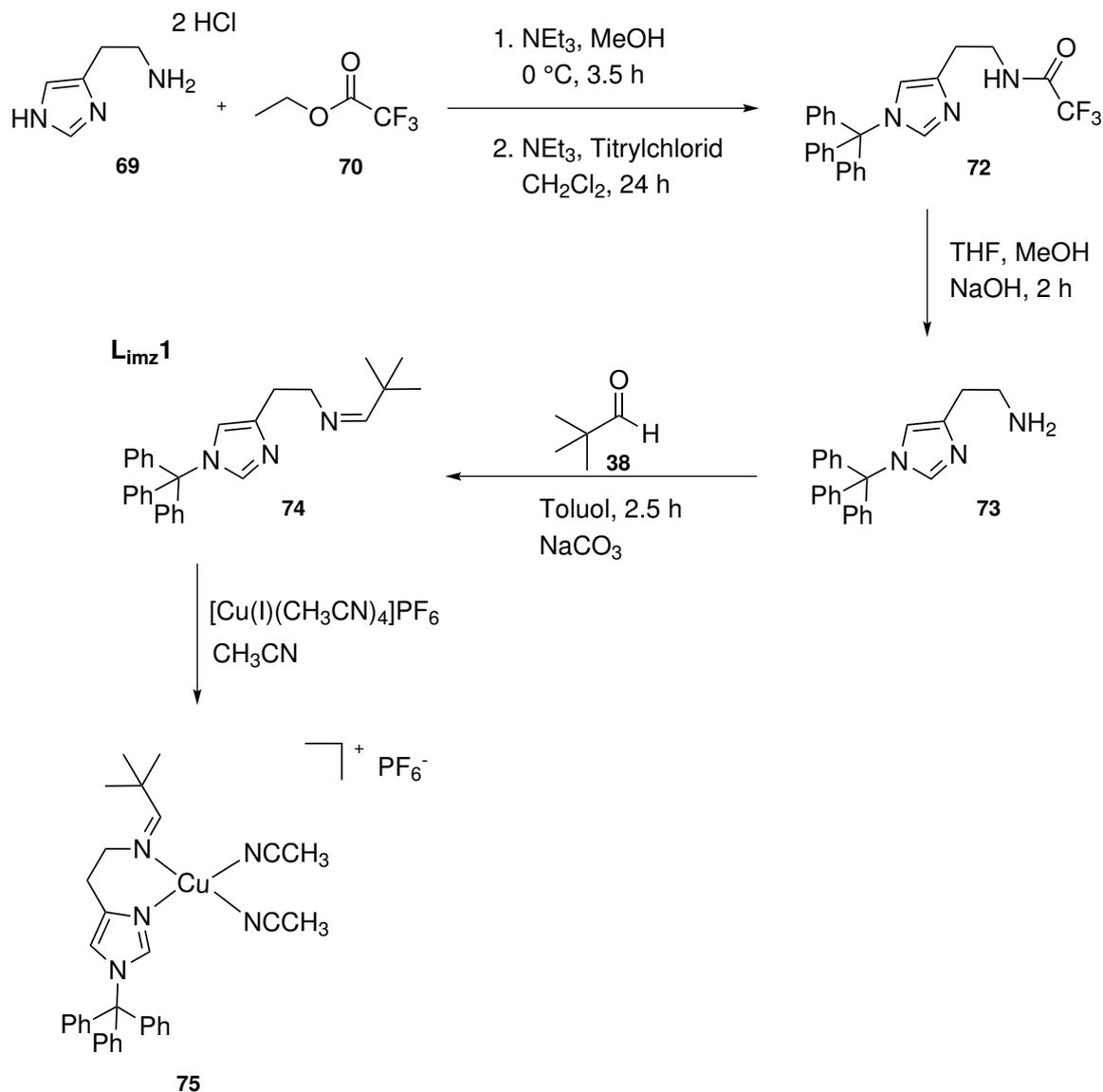


Abbildung 8.16: Synthesestrategie zur Darstellung von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-ethyl-1H-imidazol-2-yl)ethanamin (**74**) und [Cu(I)(**Limz1**)(CH₃CN)₂]PF₆ (**75**), ausgehend von Histamin-dihydrochlorid (**69**).

Im zweiten Schritt der Reaktionsfolge wurde ohne vorherige Isolierung des Zwischenproduktes die sekundäre Amin-Funktion des Imidazolrings mit 2 Äq. Titylchlorid geschützt. Nach anschließender Extraktion, wurde 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-

trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**) mit einer Ausbeute von 48 %, als erste Zwischenstufe erhalten.

Da die Trityl-Schutzgruppe säurelabil und die Trifluoroacetat-Schutzgruppe basenlabil ist, war es möglich, eine selektive Entschützung der primären Amin-Funktion durchzuführen, indem 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**) in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Methanol vorgelegt und mit Natriumhydroxid versetzt wurde. Das primäre Amin 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (**73**) konnte nach anschließender Extraktion mit Chloroform mit einer Ausbeute von 82 % erhalten werden.

Im vierten Reaktionsschritt der Syntheseroute fand die Iminkondensation mit Trimethylacetaldehyd (**38**) statt, wodurch der Zielligand *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**L_{imz}1**, **74**) erhalten wurde. Aufgrund des negativen induktiven Effektes des Trityl-Substituenten, gestaltete sich die Iminkondensation schwierig, da immer ein Gemisch aus 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (**73**) und dem Zielliganden **74** erhalten wurde. Um dennoch eine vollständige Umsetzung zu realisieren, wurden verschiedene Syntheseparameter, wie die Reaktionszeit der Synthese, das Konzentrationsverhältnis der Edukte, die Temperatur der Lösung sowie unterschiedliche Varianten und Kombinationen der Aufreinigung untersucht. Eine Übersicht über die Parameter der Reaktion sind in Tabelle 12.2 aufgeführt. Die Darstellung des Zielliganden **74** gelang, indem 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (**73**), 2 Äq. Trimethylacetaldehyd (**38**) und 25 Äq. Natriumsulfat, welches das entstehende Wasser während der Kondensationsreaktion bindet, in abs. Toluol 3 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Der Rückstand wurde in abs. Toluol umkristallisiert und gründlich mit abs. Acetonitril gewaschen, um Rückstände des primären Amins **73** zu entfernen. *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**L_{imz}1**, **74**) konnte mit einer Gesamtausbeute von 64 % erhalten werden.

Die Komplexierung zum entsprechenden Kupfer(I)-Komplex **75** stellt den letzten Reaktionsschritt dar. Analog zu den Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Komplexen (**CuL_{OL}1-3**, **14**, **25**, **27**) wurde unter inerten Bedingungen Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat in Acetonitril vorgelegt und langsam mit einer Lösung des Liganden **L_{imz}1** (**74**) in Acetonitril versetzt. Der erhaltene Komplex [Cu(I)(**L_{imz}1**)(CH₃CN)₂]PF₆ (**CuL_{imz}1**, **75**) besitzt, wie das Stammsystem **CuL_{py}1**, zwei Acetonitrilmoleküle als Co-Liganden.

8.1.3 Synthesestrategie zur Darstellung von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**78**) und des korrespondierenden Kupfer(I)-Komplexes (**79**)^[184]

Die Darstellung des Zielliganden Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**BIMZ**, **78**) orientiert sich an der Synthesevorschrift von WHITE *et al.*^[173] Hierbei wurde 1-Methylimidazol (**35**) in zwei Teilschritten zu dem Bisimidazol **78** umgesetzt (Abbildung 8.17).

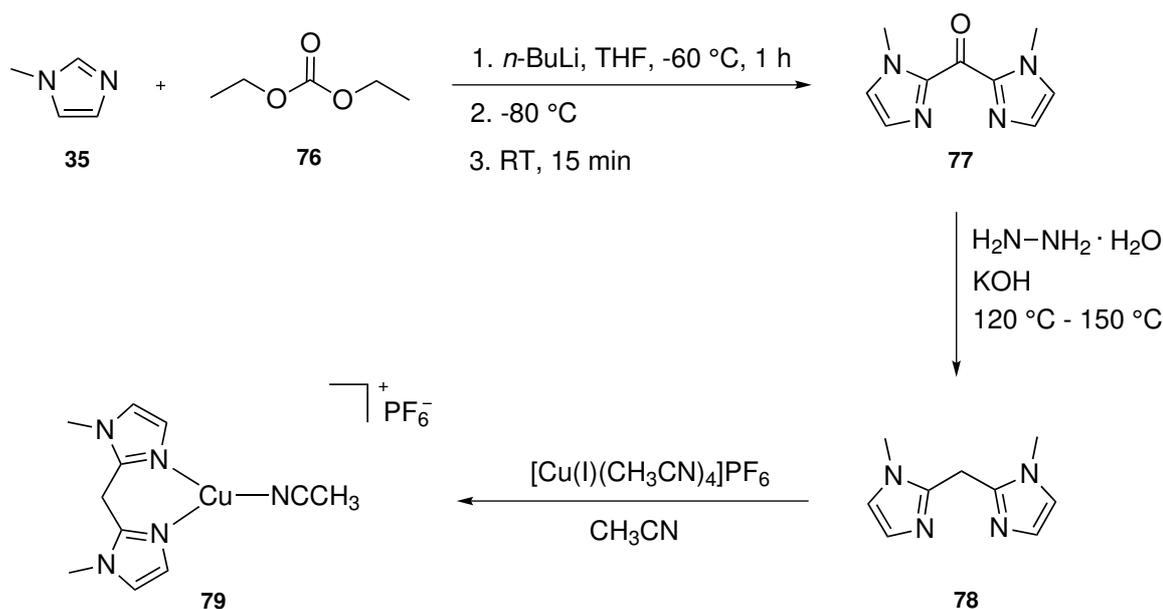


Abbildung 8.17: Gezeigt ist die Syntheseroute zur Darstellung des Liganden Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**BIMZ**, **78**) und dessen Kupfer(I)-Komplex [Cu(I)(**BIMZ**)(CH₃CN)]PF₆ (**CuBIMZ**, **79**).

Ausgehend von 1-Methylimidazol (**35**), wurde zunächst eine Deprotonierung in 2-Position mit *n*-Butyllithium erzielt. Das deprotonierte 1-Methylimidazol (**35**) greift bei -80 °C das Carbonyl-Kohlenstoff von Diethylcarbonat (**76**) nukleophil an. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser gequencht, wodurch das Zwischenprodukt Bis(1-methylimidazol-2-yl)keton (**77**) isoliert werden konnte. Im zweiten Reaktionsschritt der Reaktionsfolge wurde mittels Hydrazin-monohydrat in einer Wolff-Kishner-Reduktion Bis(1-methylimidazol-2-yl)keton (**77**) intermediär zum entsprechenden Hydrazon umgesetzt. Durch Zusatz von Kaliumhydroxid wird unter thermischer Abspaltung von Distickstoff und anschließender Protonierung Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**78**) erhalten. Die

beschriebenen Synthesebedingungen folgen der abgewandelten Variante nach HUANG-MINLON *et al.*^[206]

Einheitlich zu den bereits beschriebenen Komplexsynthesen, wurde Tetrakis(acetonitril)-kupfer(I)hexafluorophosphat als Präkursor vorgelegt, um die Bildung des homoleptischen $[\text{Cu}(\text{II})(\text{BIMZ})_2](\text{PF}_6)_2$ zu verhindern, bevor Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**78**), gelöst in Acetonitril, langsam hinzugegeben wurde. Nachdem die Lösung 30 min bei Raumtemperatur unter N_2 -Atmosphäre gerührt und das Lösungsmittel entfernt wurde, konnte **79** als gewünschtes Produkt erhalten werden. Sowohl die gemessenen NMR-Spektren als auch die Elementaranalyse zeigten, dass der hier synthetisierte Kupfer(I)-Komplex $[\text{Cu}(\text{I})(\text{BIMZ})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ (**CuBIMZ**, **79**) analog zu **CuLol1-3 (32-34)** ein Acetonitrilmolekül als Co-Ligand koordiniert.

9 Mechanistische Studien der Catechol Oxidase-Reaktion^[184]

Die Tyrosinase und die Catechol Oxidase gehören wie oben beschrieben zu den Kupfer Typ 3 Proteinen. Während die Tyrosinase im ersten Schritt die Hydroxylierung von Monophenolen in *ortho*-Position katalysiert und im Anschluss eine Zweielektronen-Oxidation der Catechole zu *ortho*-Chinone durchführt, katalysiert die Catechol Oxidase nur die Zweielektronen-Oxidation von Catecholen zu *ortho*-Chinonen. Da die Tyrosinase-Reaktion damit eine komplexere Reaktion darstellt, sollten die fünf neu synthetisierten mononuklearen bidentaten Kupfer(I)-Komplexe (CuLoL1, CuLoL2, CuLoL3, CuLimz1, CuBIMZ) zunächst hinsichtlich ihrer Catechol Oxidase-Aktivität untersucht werden (Abbildung 9.1).

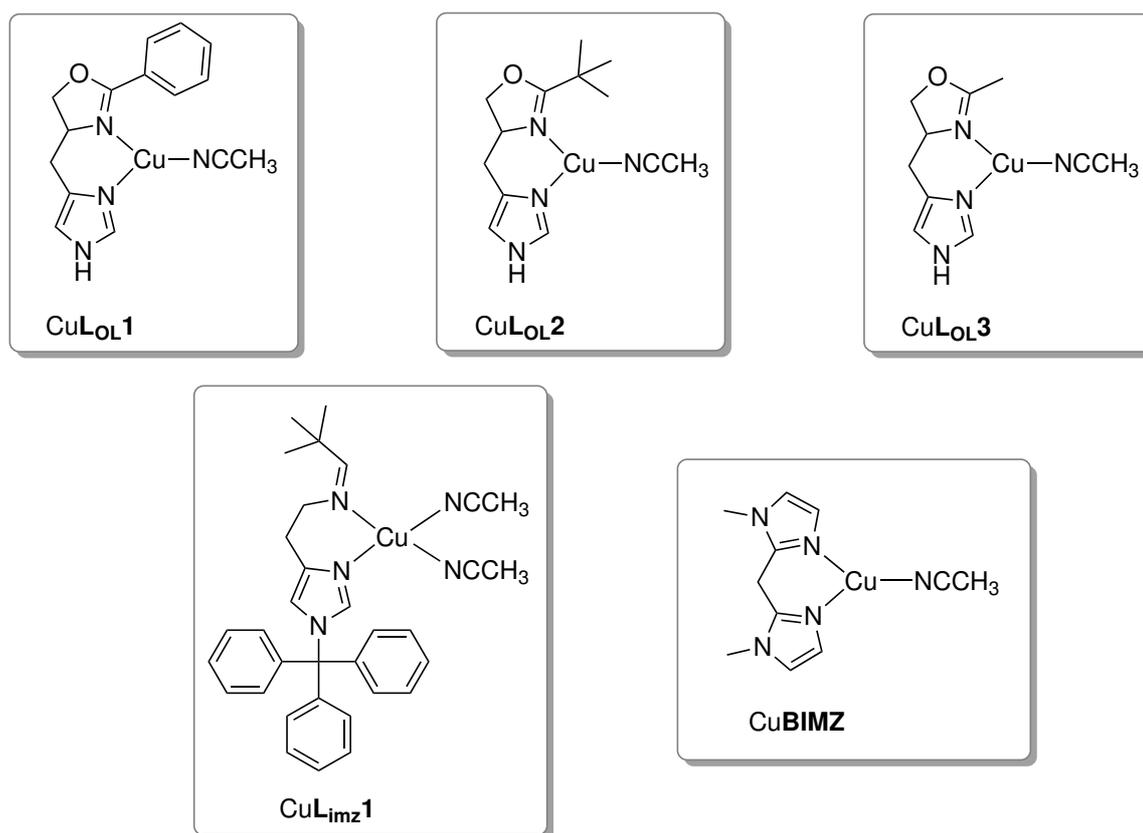


Abbildung 9.1: Strukturen der Imidazol-basierten bidentaten Kupfer(I)-Komplexe. Das zu jedem Komplex dazugehörige PF₆⁻-Gegenion ist für eine bessere Übersichtlichkeit nicht mit abgebildet.

9.1 Kupfer(I)-Komplex vermittelte Oxidations-Reaktionen von 3,5-Di-*tert*-butylcatechol

Die katalytische Effizienz aller fünf Kupfer(I)-Komplexe wurde anhand der Oxidation des Substrates 3,5-Di-*tert*-butylcatechol (3,5-DTBC-H₂) zu 3,5-Di-*tert*-butyl-*o*-chinon (3,5-DTBQ) ermittelt (Abbildung 9.2).

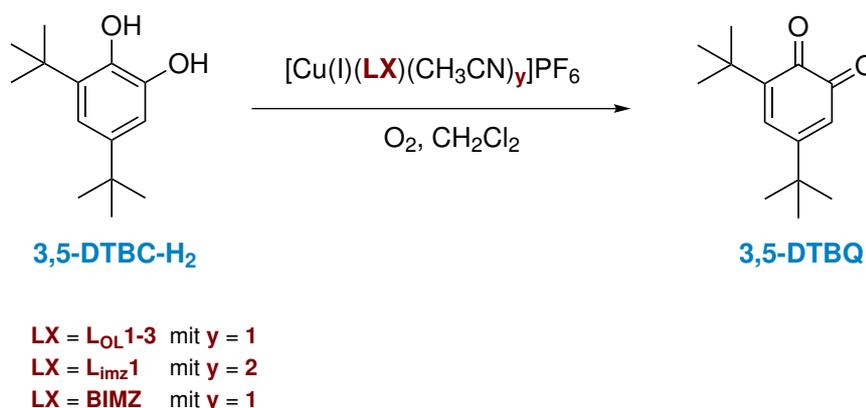


Abbildung 9.2: Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBQ mittels unterschiedlicher Kupfer(I)-Komplexe.

Der Reaktionsverlauf wurde UV/Vis-spektroskopisch verfolgt, da das entstehende 3,5-DTBQ eine charakteristische Absorptionsbande bei 400 nm ($\epsilon = 1900 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)^[207] zeigt. Nach dem *Lambert Beer'schen* Gesetz ist die Länge des Weges, die das Licht durch die Probe zurücklegt, proportional zur Lichtabsorption einer Lösung bei konstanter Konzentration. Das bedeutet, dass die Absorbanz (A) gleich dem Produkt aus Extinktionskoeffizient (ϵ), Konzentration der Lösung (c) und Schichtdicke der Küvette (l) ist (Gl. 9.1). Durch Umstellen dieser Gleichung kann die Konzentration des entstandenen Chinons berechnet werden (Gl. 9.2).

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad (9.1)$$

$$c = \frac{A}{\epsilon \cdot l} \quad (9.2)$$

Auf Basis der ermittelten Chinonkonzentration lässt sich folglich die *turnover number* und die *turnover frequency* berechnen (Gl. 4.1, Gl. 4.2).

Der Einsatz von 3,5-DTBC-H₂ als Substrat begründet sich, neben der charakteristischen Absorptionsbande bei 400 nm, durch eine hohe Stabilität des Chinons. Aufgrund der sterisch anspruchsvollen *tert*-Butylgruppen wird das Molekül stabilisiert und Nebenreaktionen, wie Polymerisationsreaktionen, verhindert. Ein weiterer positiver Aspekt ist das geringe Redoxpotential^[208, 209, 210, 211] des Catechols, wodurch es zu einem geeigneten Substrat für Studien an neuen Catechol Oxidase-Modellsystemen wird.^[142, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219]

Für die katalytischen Messungen wurde unter anaeroben Bedingungen eine 500 μM Lösung des jeweiligen Kupfer(I)-Komplexes in Dichlormethan hergestellt und 10 Äq. 3,5-DTBC-H₂ hinzugefügt. Im Anschluss wurde molekularer Sauerstoff in die Lösung eingeleitet und die Bildung des *ortho*-Chinons in definierten Abständen UV/Vis-spektroskopisch verfolgt. Die Messungen erfolgten in der erste Stunde alle 10 min und in den folgenden drei Stunden alle 30 min. Ab diesem Zeitpunkt wurde, bis zum Erreichen einer Reaktionszeit von 8 h, stündlich eine Messung durchgeführt. Anschließend fanden die Messungen alle 5 h statt. Nachdem die Konzentration von 3,5-DTBQ die Sättigung erreicht hatte, wurden 2.5 mL der Lösung entnommen und mit Dichlormethan auf 25 μM (50 mL) verdünnt. Darauffolgend wurden 20 mL einer 6 M HCl-Lösung hinzugefügt und zweimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert, um alle vorhandenen Kupferspezies zu eliminieren. Die vereinigten org. Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde anschließend mittels ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektroskopie untersucht.

Die erhaltenen UV/Vis-Spektren sind in Abbildung 9.3 aufgeführt. Unerwarteter Weise zeigen die Messungen aller Kupfer(I)-Komplexe in der Anfangsphase der Oxidationsreaktion die Ausbildung einer Doppelbande bei 377 nm und 394 nm auf, welche mit fortschreitender Zeit an Intensität zunimmt.

Die Oxidations-Reaktionen von 3,5-DTBC-H₂, katalysiert durch CuLoL1 und CuLoL2, weisen hierbei nur zu Beginn der Reaktion eine Doppelbandenstruktur im UV/Vis-Spektrum auf, bevor diese sich bei fortlaufender Reaktion in eine einzelne breite Absorptionsbande bei 400 nm umwandelt, die dem 3,5-DTBQ zugeordnet werden kann.

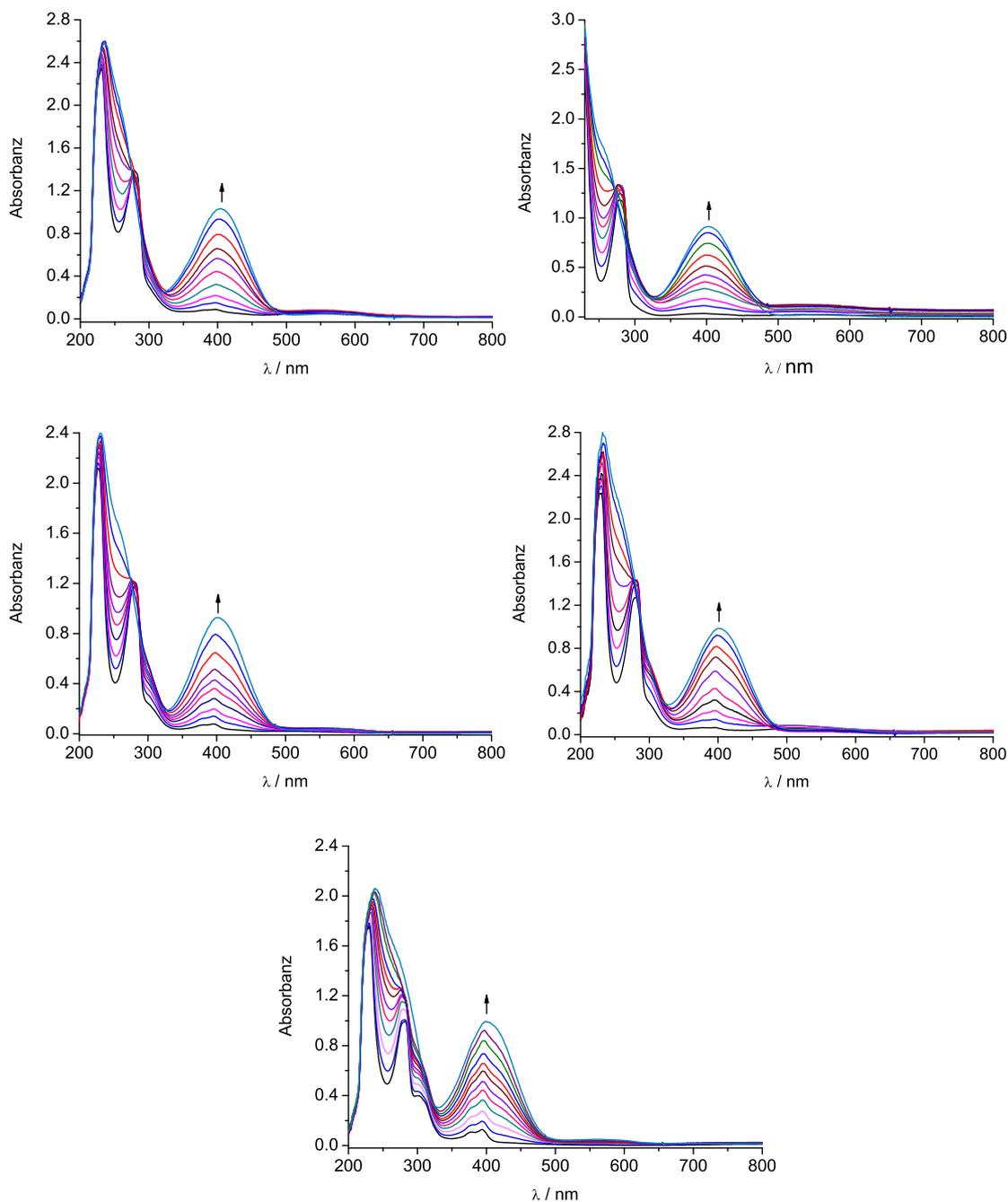


Abbildung 9.3: UV/Vis-Absorptionsspektren der Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBQ katalysiert durch die jeweiligen Kupfer(I)-Komplexe. Oben links: CuLoL1; oben rechts: CuLoL2; Mitte links: CuLoL3; Mitte rechts: CuLimz1; unten: CuBIMZ.

Im Falle des dritten Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Komplexes (CuLoL3) und des klassischen Modellsystems CuLimz1, sind die Doppelbanden zu Beginn der Reaktion im Vergleich zu CuLoL1 und CuLoL2 stärker ausgeprägt. Zum Ende der Oxidations-Reaktion ist die Doppelbandenstruktur nur noch schwach zu erkennen und wandelt sich, nachdem

keine weitere Intensitätszunahme mehr stattgefunden hat, in das entsprechende *ortho*-Chinon um.

Der Komplex Cu**BIMZ** mit dem symmetrischen Bis(imidazolyl)-Liganden zeigt bei der Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ von allen fünf Modellsystemen die definierteste Doppelbandenstruktur. Noch besser zu erkennen als im Beispiel von Cu**LoL3** und Cu**Limz1** ist, dass eine Umwandlung der Doppelbande in eine einzelne Bande bei 400 nm erst stattfindet, nachdem das Intensitätsmaximum bei 377 nm und 394 nm erreicht wurde. Erst im Anschluss kann eine sehr langsame Umwandlung in das 3,5-DTBQ beobachtet werden.

Diese Tatsache lässt den Schluss zu, dass, entgegen der Erwartungen, zu Beginn der Reaktion keine Zweielektronen-Oxidation stattgefunden hat, sondern zunächst eine Einelektronen-Oxidations-Reaktion, bei der freies 3,5-Di-*tert*-butylsemichinon (3,5-DTBSQ) gebildet wurde. Das Absorptionsspektrum von neutralem 3,5-DTBSQ wurde erstmals von SCAIANO *et al.*^[220] durch Pulsradiolyse einer N₂O-gesättigten wässrigen Lösung von Ameisensäure und 3,5-DTBQ bei pH = 7 beschrieben, welches ebenfalls eine Doppelbande bei ca. 370 nm und 390 nm aufweist. Anionisches 3,5-DTBSQ hingegen zeigt bei 376 nm ($\epsilon = 1900 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) eine einzelne Bande.^[210, 211] Folglich konnte gezeigt werden, dass erst im Anschluss an die Einelektronen-Oxidation zum freien Semichinon eine Weiteroxidation zum Produkt (3,5-DTBQ) stattfindet.

Die Berechnung der *turnover number* anhand der maximalen Absorbanz ergab für alle untersuchten Kupfer(I)-Komplexe eine vollständige Umsetzung zum gewünschten *ortho*-Chinon mit einer maximal möglichen Umsatzrate von 10 pro mononuklearen Kupfer(I)-Komplex. Da die Möglichkeit besteht, dass während der Katalyse neben dem gewünschten Produkt weitere organische Verbindungen durch z. B. Kupplungsreaktionen entstanden sein könnten, welche aufgrund ihrer Lage oder ihrer zu geringen Konzentration gar nicht oder nur schwer UV/Vis-spektroskopisch zu detektieren sind, wurde nach Erreichen der maximalen TON von 10 ein HCl-Quench durchgeführt. Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte in allen fünf Oxidations-Reaktionen eine vollständige Umsetzung zu 3,5-DTBQ ohne das Vorhandensein von weiteren Nebenprodukten. In Abbildung 9.4 ist beispielhaft das ¹H-NMR-Spektrum von 3,5-DTBQ gezeigt, welches nach 20 h Reaktionszeit von 3,5-DTBC-H₂ in Anwesenheit von Cu**LoL1** und anschließendem HCl-Quench in deuteriertem Chloroform erhalten wurde.

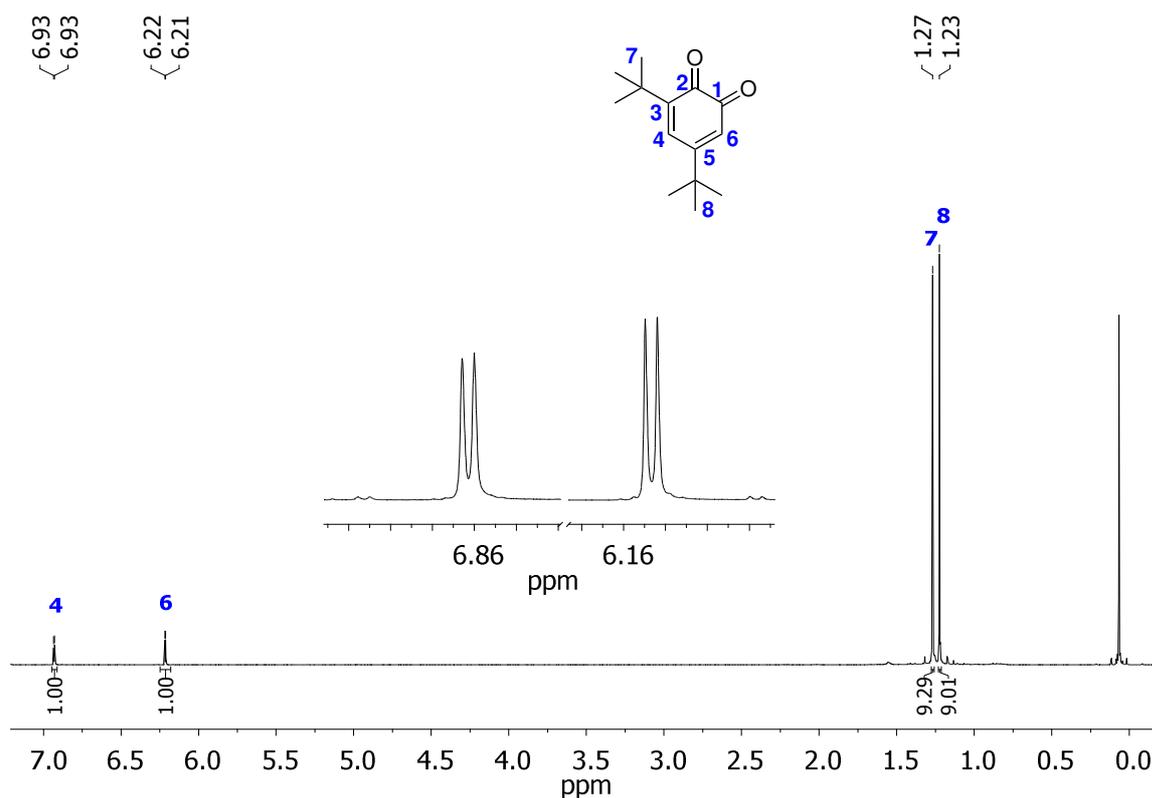


Abbildung 9.4: ¹H-NMR-Spektrum von 3,5-DTBQ in CDCl₃, aufgenommen nach 20 h Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ in Dichlormethan in Anwesenheit von CuLoL1 nach anschließendem HCl-Quench.

Die benötigte Zeit für die vollständige Oxidations-Reaktion von 3,5-DTBC-H₂ variierte mit Einsatz der unterschiedlichen Modellsysteme (Tabelle 9.1).

Tabelle 9.1: Auflistung der benötigten Zeit der jeweiligen Kupfer(I)-Komplexe, die für eine vollständige Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ (TON = 10) zu 3,5-DTBQ benötigt wurde.

Kupfer(I)-Komplex	CuLoL1	CuLoL3	CuBIMZ	CuLoL2	CuLimz1
Zeit / h	20	23	36	53	77
TOF nach 1 h	0.096	0.079	0.068	0.038	0.019

Hierbei erwies sich das Modellsystem CuLoL1 als schnellstes System mit 10 turnover nach 20 h. Nur unwesentlich langsamer war das Modellsystem CuLoL3 mit 10 turnover nach 23 h. Der Kupfer(I)-Komplex mit symmetrischem Ligandendesign CuBIMZ benötigte 36 h für die Oxidationsreaktion und stellt damit das drittschnellste Catechol Oxidase-System dar. Im Vergleich zu den Oxazolin-basierten Systemen CuLoL1 und CuLoL3, weist

der Komplex CuLoL2 mit der *tert*-Butyl-Einheit eine deutlich längere Reaktionszeit bis zur vollständigen Oxidation zum Produkt (3,5-DTBQ) auf. Der Unterschied der untersuchten Modellsysteme mit den Liganden LoL1-3 besteht in der Substitution in 2-Position der Oxazolin-Einheit. Mögliche Annahmen, um diesen Sachverhalt zu begründen, werden in Kapitel 9.4 näher erläutert. Von allen untersuchten Kupfer(I)-Komplexen benötigt CuLimz1 mit 77 h die längste Reaktionszeit.

In Abbildung 9.5 sind die Auftragungen der *turnover number* gegen die Zeit und die *turnover frequency* gegen die Zeit für die verschiedenen Kupfer(I)-Komplexe aufgeführt. Auffällig ist der Verlauf der *turnover frequency* für CuLimz1. Hier wurde nicht, wie bei den anderen Kupfer(I)-Komplexen, ein kontinuierlicher Abfall der *turnover frequency* mit der Zeit gefunden, sondern innerhalb der ersten 5 h ein steiler Abfall der *turnover frequency*, welcher zunächst für mehrere Stunden ein Plateau bildete. Anschließend fand ein Abfall der Kurve mit einer geringeren Steigung statt. Mehrere Kontrollmessungen ergaben immer den gleichen Kurvenverlauf. Da, wie oben gezeigt, bei der Oxidationsreaktion zunächst eine Einelektronen-Oxidation zum Semichinon 3,5-DTBSQ stattfindet, könnte dieser Teilschritt der Reaktion mit dem steil abfallenden Kurvenabschnitt beschrieben werden. Die anschließende Weiteroxidation zu 3,5-DTBQ könnte den zweiten Kurvenabschnitt mit erheblich flacher abfallender Kurve erklären. Da bei den anderen untersuchten Modellsystemen ebenfalls in den UV/Vis-Spektren freies Semichinon gefunden wurde, jedoch kein stufenförmiger Verlauf der *turnover frequency*, besteht die Annahme, dass die Einelektronen-Oxidation zum Semichinon und die Weiteroxidation zum Chinon parallel stattfinden, während im Fall des CuLimz1 die Weiteroxidation später stattfindet, was den gefundenen Kurvenverlauf erklären könnte.

Da es apparativ nicht möglich war die genaue Konzentration des injizierten molekularen Sauerstoffs einzustellen, ist der Vergleich der Reaktionszeiten nur als erster Hinweis zu betrachten. Exaktere Ergebnisse liefern hierbei Messungen mit konstanter Sauerstoffkonzentration wie sie in Kapitel 9.4 beschrieben werden.

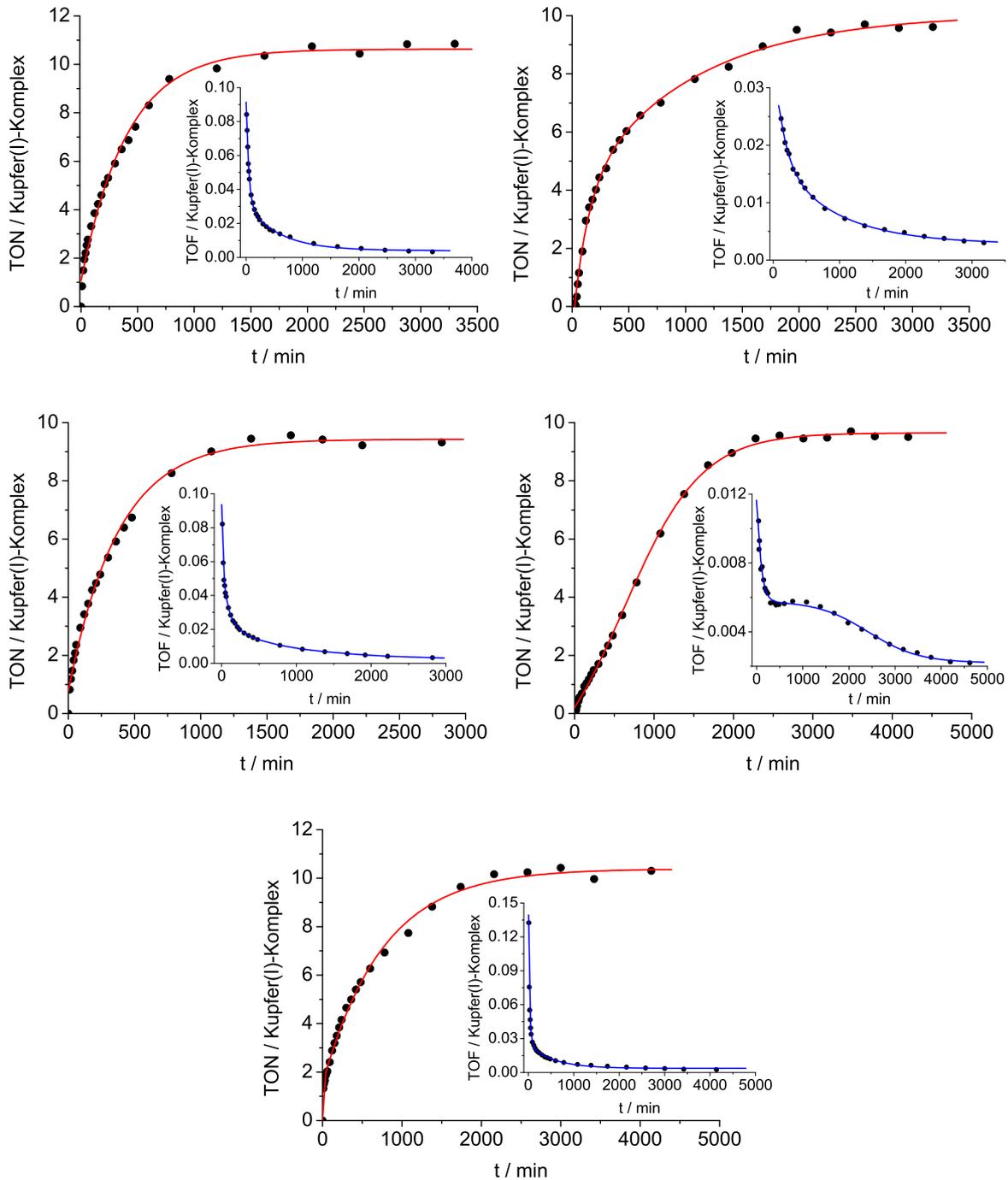
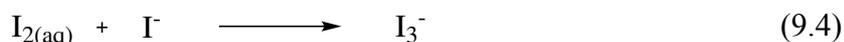


Abbildung 9.5: Zeitabhängige Auftragung der *turnover number* und *turnover frequency* (Einschub) pro Kupfer(I)-Komplex für die Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBQ. Oben links: CuLoL1; oben rechts: CuLoL2; Mitte links: CuLoL3; Mitte rechts: CuLimz1; unten: CuBIMZ.

9.2 Nachweis von Wasserstoffperoxid während der Catechol Oxidase-Reaktion

Das Enzym, Catechol Oxidase, welches in der Natur vorkommt, generiert während der Zweielektronen-Oxidation von einem Catechol zum entsprechenden *ortho*-Chinon ein Molekül Wasser. Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass Modellsysteme, die ebenso die Zweielektronen-Oxidation der Catechol Oxidase nachahmen, auch Wasserstoffperoxid statt Wasser während der Katalyse als Nebenprodukt bilden können.^[5, 218, 135, 138] Da das entstehende Nebenprodukt Rückschlüsse auf den möglichen Katalysezyklus liefert, ist es von großem Interesse dies näher zu untersuchen.

Die Konzentrationsbestimmung von Wasserstoffperoxid während der Katalyse wurde nach einer Methode von TABBI *et al.*^[138] durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, bei dem das vorhandene Wasserstoffperoxid mit einem Überschuss an Iodid-Ionen zu Wasser und molekularem Iod reagiert (Gl. 9.3), welches im Anschluss durch Reaktion mit einem weiteren Iodid-Ion Triiodid (I_3^-) erzeugt (Gl. 9.4).



Die Entwicklung der I_3^- -Konzentration kann UV/Vis-spektroskopisch anhand einer charakteristischen Bande bei 353 nm ($\epsilon = 26000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)^[138] verfolgt werden.

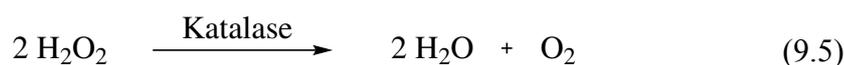
Der Nachweis der Wasserstoffperoxidkonzentration wurde für alle fünf Modellsysteme untersucht. Hierfür wurde, wie in Abschnitt 9.1 beschrieben, eine 500 μM Lösung des jeweiligen Kupfer(I)-Komplexes mit 10 Äq. 3,5-DTBC- H_2 versetzt und molekularer Sauerstoff injiziert. Anschließend wurden aus jeder Lösung, in Abständen von 15 min, 1 h und 2 h, 5 mL der Reaktionslösung entnommen und 5 mL dest. Wasser hinzugefügt. Das während der Oxidations-Reaktion entstandene 3,5-DTBQ wurde dreimal gründlich mit je 10 mL Dichlormethan extrahiert. Diese Prozedur ist notwendig, da das Chinon ebenfalls Iodid oxidieren kann. Die wässrige Phase wurde mit konzentrierter Schwefelsäure auf $\text{pH} = 2$ angesäuert und mit 1 mL einer 10 %-igen wässrigen Kaliumiodid-Lösung versetzt. Um die Reaktion zu beschleunigen, wurden zusätzlich 3 Tropfen einer 10 %-igen wässrigen Lösung Ammoniumheptamolybdat-tetrahydrat hinzugefügt.

Da neben dem Chinon auch der vorhandene Sauerstoff in der umgebenen Atmosphäre in der Lage ist I⁻ zu oxidieren und damit das Ergebnis verfälschen würde, wurde jede Messung gegen eine Referenzlösung vermessen, welche zeitgleich zu der Probe hergestellt wurde. Die Referenz-Lösung bestand aus 5 mL Wasser, Schwefelsäure zum Ansäuern auf pH = 2 und 3 Tropfen Ammoniumheptamolybdat-tetrahydrat-Lösung.

Für alle Oxidations-Reaktionen, katalysiert durch die hier vorgestellten fünf unterschiedlichen Kupfer(I)-Komplexe, konnte zu keinem Zeitpunkt das Vorhandensein von Wasserstoffperoxid nachgewiesen werden.

9.3 Katalase-Aktivität

Da für keinen der untersuchten Modellsysteme eine nachweisbare Wasserstoffperoxidkonzentration während der Katalyse gefunden wurde, gibt es einerseits die Variante, dass während der Katalyse, wie im natürlichen Enzym auch, Wasser als Nebenprodukt gebildet wird, andererseits besteht die Möglichkeit, dass die verwendeten Kupfer(I)-Komplexe Katalase-Aktivität aufweisen. In diesem Fall würde das während der Reaktion gebildete Wasserstoffperoxid zu Wasser und molekularem Sauerstoff umgesetzt werden (Gl. 9.5). Das hätte ebenfalls zur Folge, dass der Wasserstoffperoxid-Nachweis negativ wäre.^[221]



Die Messungen wurden nach einer Methode von TABBI *et al.*^[138] durchgeführt. Es wurden 40 mL einer 0.1 M Wasserstoffperoxid-Maßlösung hergestellt. Anschließend wurde eine Maßlösung zum Nachweis der Wasserstoffperoxidkonzentration hergestellt. Hierfür wurden 100 mL Wasser mit konz. Schwefelsäure auf pH = 2 angesäuert und mit 500 mg (3.01 mmol) Kaliumiodid und 12.3 µg (10.0 µmol) Ammoniumheptamolybdat-tetrahydrat versetzt. Jeweils 10 mL der methanolischen Wasserstoffperoxid-Lösung wurden auf sechs unterschiedliche Kolben verteilt, 1 mL des jeweiligen Kupfer(I)-Komplexes (500 µM in Acetonitril) in die Lösung gespritzt und 3 h gerührt. Anschließend wurden je 2 mL der Nachweislösung vorgelegt, 5 µL der Reaktionslösung hinzugefügt und 1 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. In dieser Zeit fand eine Gelbfärbung der vorher farblosen

Lösungen statt, dessen Intensität abhängig von der noch vorhandenen Wasserstoffperoxidkonzentration war (Abbildung 9.6).

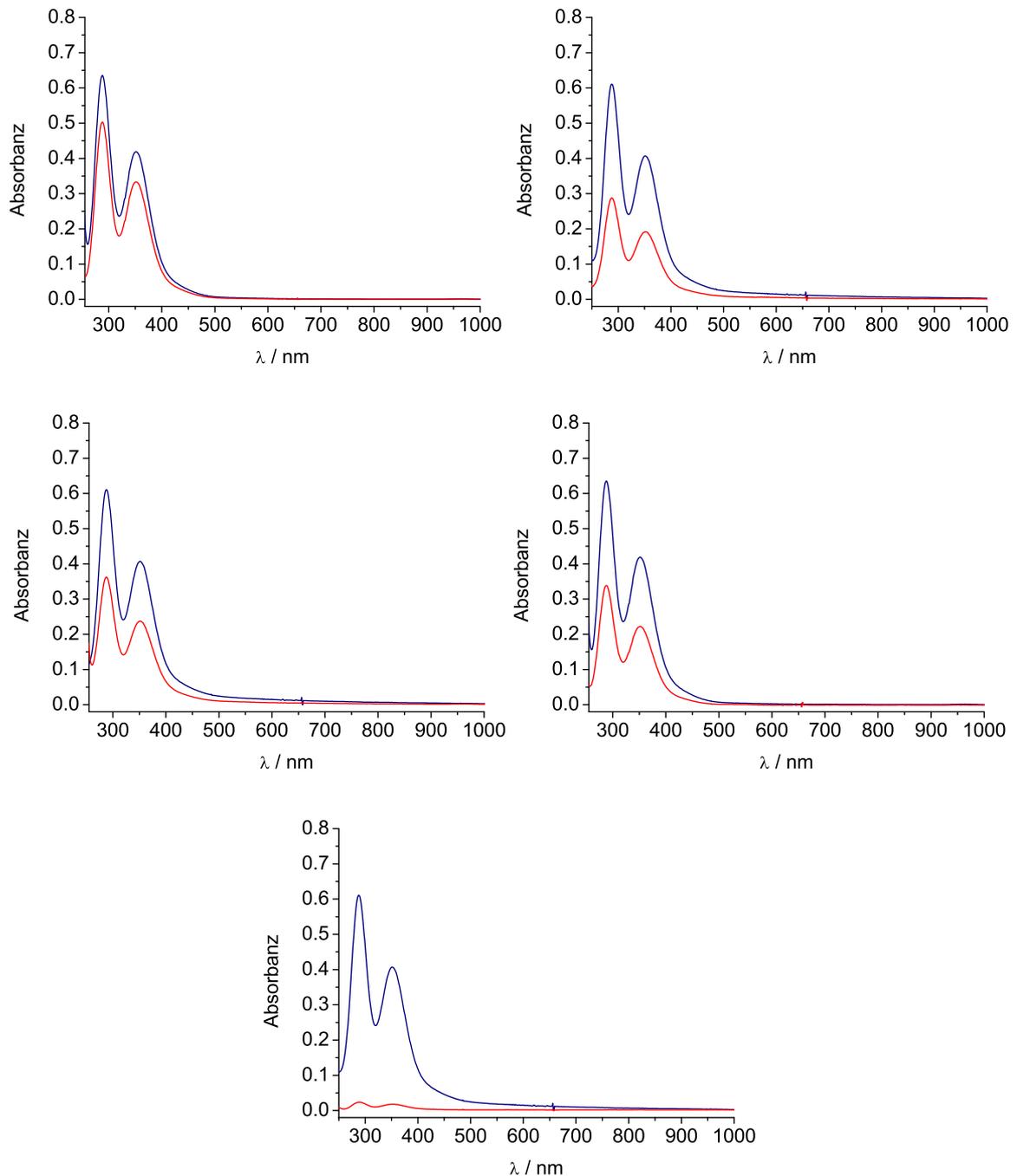


Abbildung 9.6: Blau: UV/Vis-Absorptionsspektren der Anfangskonzentration (0.1 M) von Wasserstoffperoxid. Rot: Erhaltene UV/Vis-Absorptionsspektren nach Reaktion einer methanolischen Wasserstoffperoxid-Lösung (0.1 M) mit unterschiedlichen Kupfer(I)-Komplexen (Schichtdicke: $l = 1$ cm). Oben links: CuLo1; oben rechts: CuLo2; Mitte links: CuLo3; Mitte rechts: CuLim1; unten: CuBIMZ.

Alle Messungen wurden gegen eine farblose Referenzlösung, bestehend aus 2 mL Nachweislösung und 5 μ L Methanol, gemessen. Die methanolische Wasserstoffperoxid-Maßlösung (1 mM) lieferte hierbei die Anfangskonzentration und wurde mit den Wasserstoffperoxidkonzentrationen verglichen, die nach 3 h in Anwesenheit der Kupfer(I)-Komplexe ermittelt wurden (Abbildung 9.6).

Die Auftragungen zeigen, dass die Wasserstoffperoxidkonzentrationen in Anwesenheit der untersuchten Kupfer(I)-Komplexe nach 3 h geringer sind. Die Differenz zur Ausgangskonzentration variiert jedoch in Abhängigkeit des eingesetzten Kupfer(I)-Komplexes. Die prozentuale Abnahme der Wasserstoffperoxidkonzentration ist in Tabelle 9.2 aufgeführt.

Tabelle 9.2: Prozentuale Abnahme der Wasserstoffperoxidkonzentration der fünf Kupfer(I)-Komplexe nach 3 h.

Kupfer(I)-Komplex	CuLoL1	CuLoL2	CuLoL3	CuLimz1	CuBIMZ
Abnahme der H ₂ O ₂ -Konzentration	28 %	53 %	42 %	45 %	96 %

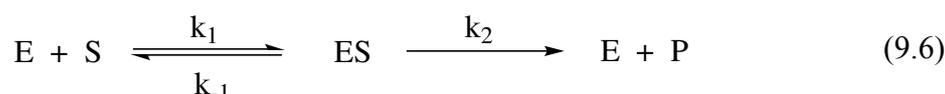
Es zeigt sich, dass CuLoL1 mit einer 28 %-igen Abnahme der Wasserstoffperoxidkonzentration die geringste Katalase-Aktivität aufweist, während CuBIMZ nach 3 h mit 96 %-iger Reduzierung der Wasserstoffperoxidkonzentration die höchste Katalase-Aktivität zeigt. Durch den Einsatz von CuLoL2, CuLoL3 und CuLimz1 wurde mit 53 %, 42 % und 45 % ca. die Hälfte des vorgelegten Wasserstoffperoxids zu Wasser und molekularem Sauerstoff umgewandelt. Damit ergibt sich folgender Trend der Katalase-Aktivität:



Da die gezeigte katalytische Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ sehr langsam stattfindet und eine geringe bis gute Katalase-Aktivität der fünf Kupfer(I)-Komplexe gefunden wurde, kann eine Bildung von Wasserstoffperoxid während der Katalyse nicht ausgeschlossen werden.

9.4 Kinetische Studien der Kupfer(I)-Modellkomplexe

Nachdem die anfänglichen Untersuchungen in Abschnitt 9.1 zeigten, dass die Kupfer(I)-Komplexe Cu_{LoL1-3}, Cu_{Limz1} und Cu_{BIMZ} die Oxidations-Reaktion von 3,5-DTBC-H₂ katalysieren, soll in diesem Kapitel der Fokus zunächst auf die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeiten gelegt werden, um die Katalysatoren untereinander vergleichen zu können. Zu diesem Zweck wurde die Theorie von Michaelis-Menten angewendet. Die Michaelis-Menten-Gleichung beschreibt die Kinetik enzymatischer Reaktionen, indem es die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Substratkonzentration erklärt. Hierbei ergibt sich eine charakteristische hyperbolische Abhängigkeit der Enzymaktivität. Der erste Schritt vom Michaelis-Menten-Mechanismus ist die Bildung eines Enzym-Substrat-Komplexes (ES). Anschließend wird das Enzym (E), entweder unverändert oder nach einer Modifikation, wieder freigesetzt (Gl. 9.6).^[222]



Hierbei ist die Bildung des Produktes (P) der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Infolge des Substratüberschusses werden die vorhandenen Enzymmoleküle (E) schnell in den entsprechenden Enzym-Substrat-Komplex (ES) überführt, so dass die Reaktionsgeschwindigkeit über einen längeren Zeitraum konstant bleibt. Eine weitere Erhöhung der Substratkonzentration führt unter diesen Bedingungen zu keiner Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit. Demnach ergibt die Auftragung unterschiedlicher Anfangsgeschwindigkeiten gegen die Substratkonzentration eine Sättigungskurve.^[222]

Die Michaelis-Menten-Theorie bestimmt folglich die Anfangsgeschwindigkeit der Enzym-Reaktion. Die von den vorgestellten Komplexen katalysierte Oxidations-Reaktion von 3,5-DTBC-H₂ zeigte, unabhängig von dem eingesetzten Modellkomplex, zunächst die Entstehung von 3,5-DTBSQ (Abbildung 9.3). Aufgrund der Tatsache, dass erst im späteren Verlauf der Reaktion *ortho*-Chinon gebildet wird, sollen im Folgenden die Anfangsgeschwindigkeiten der Bildung von 3,5-DTBSQ miteinander verglichen werden.

Die Durchführung dieser Messungen setzt voraus, dass nur ein Parameter der Reaktion variiert wird. Begonnen wurde mit der Variation der Substratkonzentration. Demnach

müssen die Kupfer(I)-Komplexkonzentration und die Sauerstoffkonzentration bei jeder Messung identisch sein. Da es nicht möglich war, eine definierte Sauerstoffkonzentration in die Reaktionslösung einzuleiten, wurde diese Tatsache umgangen, indem das verwendete Dichlormethan 1 d mit Sauerstoff gesättigt wurde. Anders als bei der Oxidations-Reaktion mit 10 Äq. Substrat über mehrere Tage, besteht bei der Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit der Bildung von 3,5-DTBSQ kein Risiko, dass der Sauerstoff binnen dieser kurzen Reaktionszeit vollständig verbraucht wird, so dass die Verwendung von sauerstoffgesättigtem Lösungsmittel die Problematik einer konstanten Sauerstoffkonzentration behebt.

Unter aeroben Bedingungen wurden in einen 10 mL Messkolben definierte Mengen des Substrates 3,5-DTBC-H₂ im Bereich von 2 mM bis 40 mM eingewogen und in ca. 8 mL sauerstoffgesättigtem Dichlormethan gelöst. Zuvor wurden unter anaeroben Bedingungen für jeden Kupfer(I)-Komplex 5 mL einer 1 mM Maßlösung in Dichlormethan angesetzt, aus der für jede Messung 0.5 mL entnommen und diese ohne vorherigen Sauerstoffkontakt in die Reaktionslösung gespritzt wurden. Anschließend wurde der Messkolben mit sauerstoffgesättigtem Dichlormethan bis zur Eichmarke aufgefüllt. Nach Injektion des Katalysators wurde die entstandene Doppelbande bei 377 nm und 394 nm nach 120 s UV/Vis-spektroskopisch detektiert (Abbildung 9.7).

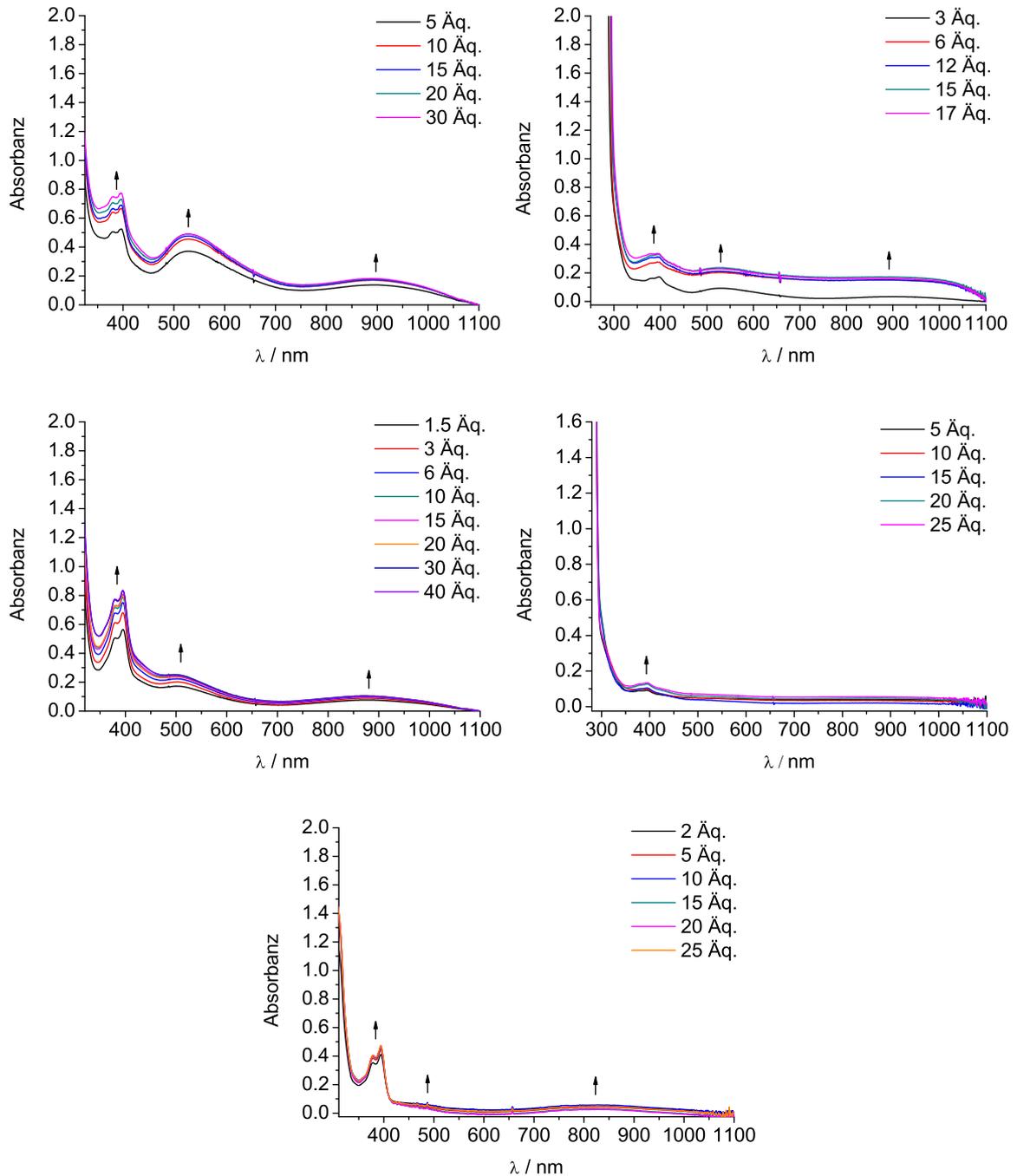


Abbildung 9.7: UV/Vis-Absorptionsspektren, entstanden durch Oxidation unterschiedlicher Konzentrationen von 3,5-DTBC- H_2 in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan in Gegenwart einer der jeweiligen Kupfer(I)-Komplexe (1 mM). Die Substratkonzentration variiert zwischen 1.5 Äq. und 40 Äq. (Schichtdicke: $l = 1$ cm). Oben links: CuLoL1; oben rechts: CuLoL2; Mitte links: CuLoL3; Mitte rechts: CuLimz1; unten: CuBIMZ.

Anhand der Absorptionsspektren konnte wie erwartet ein Zusammenhang zwischen der Variation der Substratkonzentration und der Intensität der Semichinonbande beobachtet werden. Für eine bessere Übersichtlichkeit wurden die Reaktionsraten der Bildung von 3,5-DTBSQ gegen die variierte Catecholkonzentration (3,5-DTBC-H₂) aufgetragen (Abbildung 9.8).

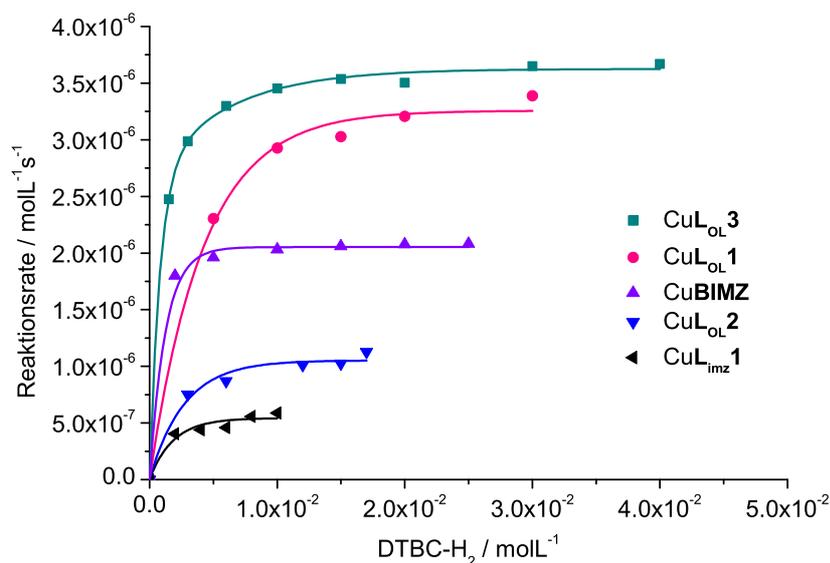


Abbildung 9.8: Abhängigkeit der Reaktionsrate der Bildung von 3,5-DTBSQ bei unterschiedlichen Substratkonzentrationen, katalysiert durch CuL_{OL1-3}, CuL_{imz1} und CuBIMZ. Die Messungen wurden in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan durchgeführt.

In guter Übereinstimmung mit der typischen Enzymkinetik, konnte für jeden eingesetzten Kupfer(I)-Komplex eine Sättigungskurve aufgezeigt werden. Das bedeutet, dass die Geschwindigkeit mit steigender Substratkonzentration zunächst ansteigt, jedoch eine weitere Erhöhung der Substratkonzentration zu keinem weiteren Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit führt, da die Konzentration des Enzym-Substrat-Komplexes zu diesem Zeitpunkt maximal ist. Die höchste Reaktionsrate weist CuL_{OL3} auf, dicht gefolgt von CuL_{OL1}. Die Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ mit CuBIMZ scheint weitestgehend unabhängig von der eingesetzten Substratkonzentration zu sein, was ein Hinweis auf eine besonders hohe Bindungskonstante darstellt.^[218] Wie auch in Kapitel 9.1 gezeigt, ergeben sich für CuL_{OL2} und CuL_{imz1} deutlich geringere Geschwindigkeiten. Anhand dieser Auftragen ist es möglich unterschiedliche Parameter zu bestimmen, die den Vergleich der Katalysatoren untereinander zulassen.

Jedoch ist die Anwendung eines Linearisierungsverfahrens zur Bestimmung dieser Parameter sinnvoll, da hierdurch Abweichungen der Gesetzmäßigkeit der Michaelis-Menten-Beziehung deutlicher zu erkennen sind und die sich aus der Messung ergebenden Parameter mit einem geringeren Fehler behaftet sind.

In Abbildung 9.9 ist die Linearisierung der in Abbildung 9.8 erhaltenen Sättigungskurven dargestellt. Durch die doppelt reziproke Umkehrung der Michaelis-Menten-Gleichung wird die so genannte Lineweaver-Burk-Gleichung erhalten. Durch die graphische Auftragung der reziproken Reaktionsgeschwindigkeit ($1/v$) gegen die reziproke Substratkonzentration ($1/[S]$), wird eine Gerade mit der Steigung (K_M/v_{\max}) generiert, welche die Abszisse bei $-1/K_M$ schneidet.

Anhand der Auftragungen wurden für jeden Modellkomplex die folgenden Parameter ermittelt: K_M , v_{\max} und k_{cat} . K_M ist die sogenannte Michaeliskonstante. Diese Kenngröße der enzymatischen Reaktion definiert die Substratkonzentration, bei der die Umsatzgeschwindigkeit der Reaktion halbmaximal ist. v_{\max} ist die maximale Umsatzgeschwindigkeit bei hohen Substratkonzentrationen, die nicht weiter erhöht werden kann, da die gesamte Enzymmenge in Form des Enzym-Substrat-Komplexes vorliegt. k_{cat} , auch Wechselzahl, molekulare Aktivität oder *turnover number* genannt, stellt die Geschwindigkeitskonstante des geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes dar.

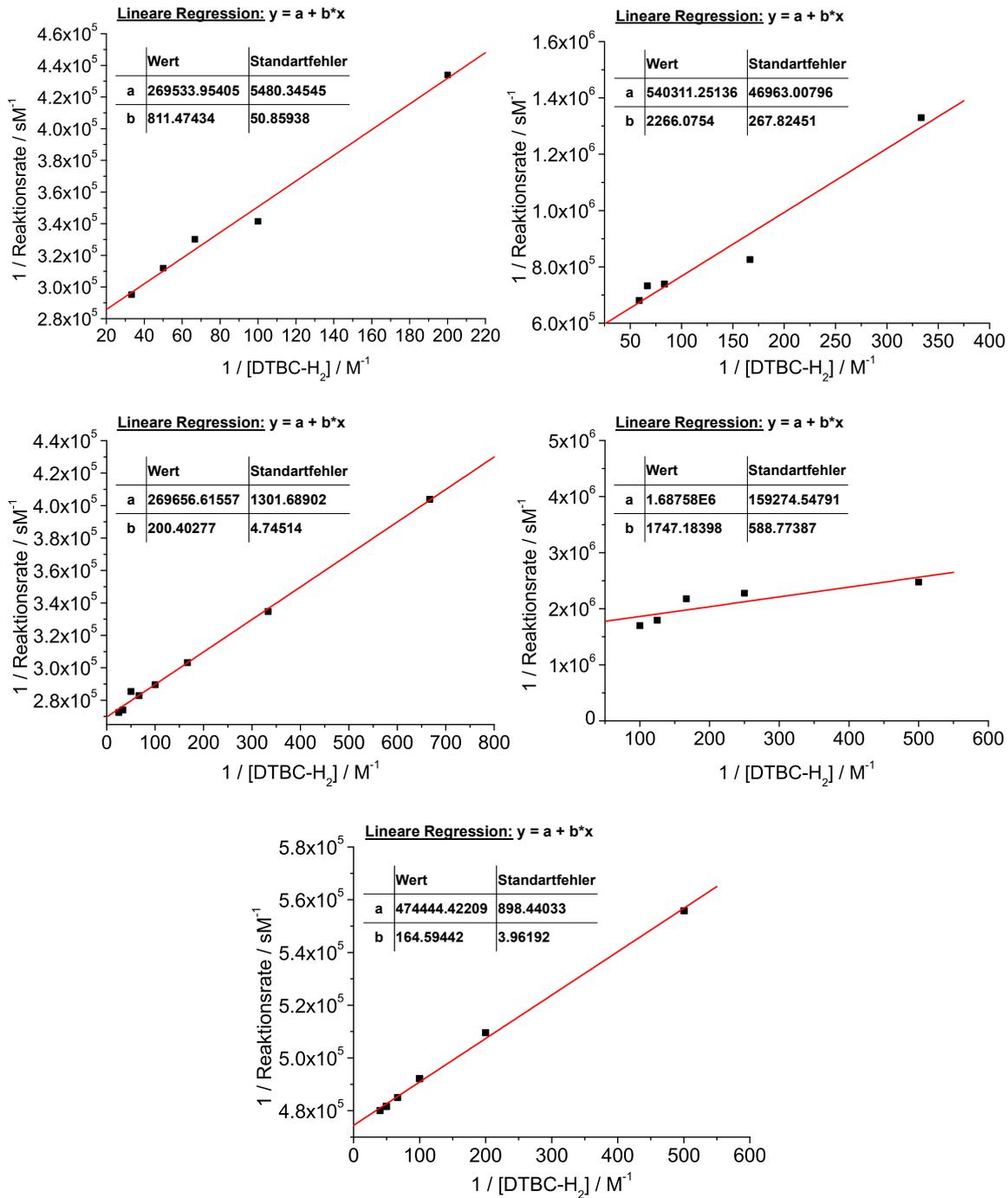


Abbildung 9.9: Lineweaver-Burk-Plot der Oxidation von 3,5-DTBC-H₂. Oben links: CuLoL1; oben rechts: CuLoL2; Mitte links: CuLoL3; Mitte rechts: CuLimz1; unten: CuBIMZ.

Die Parameter, die aus der Lineweaver-Burk-Auftragung erhalten wurden, sind in Tabelle 9.3 zusammengefasst.

Tabelle 9.3: Kinetische Parameter, ermittelt aus den Lineweaver-Burk-Auftragungen, für die Oxidation von 3,5-DTBC-H₂.

Kupfer(I)-Komplex	K _M (M)	v _{max} (Mmin ⁻¹)	k _{cat} (min ⁻¹)
CuLoL1	3.01·10 ⁻³ (±2.50·10 ⁻⁴)	2.23·10 ⁻⁴ (±4.53·10 ⁻⁶)	22.3·10 ⁻² (±4.53·10 ⁻³)
CuLoL2	4.19·10 ⁻³ (±8.60·10 ⁻⁴)	1.11·10 ⁻⁴ (±9.65·10 ⁻⁶)	11.1·10 ⁻² (±9.65·10 ⁻³)
CuLoL3	7.43·10 ⁻⁴ (±2.12·10 ⁻⁵)	2.22·10 ⁻⁴ (±1.07·10 ⁻⁶)	22.2·10 ⁻² (±1.08·10 ⁻³)
CuLimz1	1.04·10 ⁻³ (±4.47·10 ⁻⁴)	3.56·10 ⁻⁵ (±3.35·10 ⁻⁶)	3.56·10 ⁻³ (±3.35·10 ⁻³)
CuBIMZ	3.47·10 ⁻⁴ (±9.01·10 ⁻⁶)	1.26·10 ⁻⁴ (±2.39·10 ⁻⁷)	12.6·10 ⁻² (±2.42·10 ⁻⁴)

Die kinetischen Untersuchungen erlauben eine Korrelation zwischen der Struktur des eingesetzten Ligandensystems und der Catechol Oxidase-Aktivität. Wie oben schon erwähnt, steigt der sterische Anspruch der Oxazolin-basierten Liganden von Methyl (**LoL3**) über Phenyl (**LoL1**) zu *tert*-Butyl (**LoL2**). In guter Übereinstimmung mit dieser Tatsache, spiegeln die Werte für v_{max} und k_{cat} wieder, dass CuLoL1 und CuLoL3 die aktivsten Katalysatoren sind. Das Kupfer-Zentrum des CuLoL3 Komplexes ist durch die vorhandene Methyl-Einheit kaum abgeschirmt, so dass das Substrat (3,5-DTBC-H₂) ungehindert an das aktive Zentrum binden kann. Die Phenylgruppe des CuLoL1 Komplexes ist zwar deutlich sperriger, jedoch besitzt sie eine große Flexibilität und kann damit den Zugang des Substrates zum aktiven Zentrum ermöglichen, was sich in dem leicht höheren K_M-Werten widerspiegelt. Im Gegensatz dazu weist die sphärische *tert*-Butyl-Einheit des CuLoL2 Komplexes signifikant geringere Werte für v_{max} und k_{cat} auf. Im Vergleich zu CuLoL1 und CuLoL2, zeigt v. a. CuLimz1 eine deutlich verminderte katalytische Aktivität auf. Die Sättigungskinetik ergibt damit folgenden Trend der katalytischen Bildung von 3,5-DTBSQ:



Neben der Variation der Substratkonzentration wurde auch die Komplexkonzentration variiert, um Informationen über den Zusammenhang zwischen der Reaktionsgeschwindigkeit und der Komplexkonzentration zu erhalten (Abbildung 9.10).

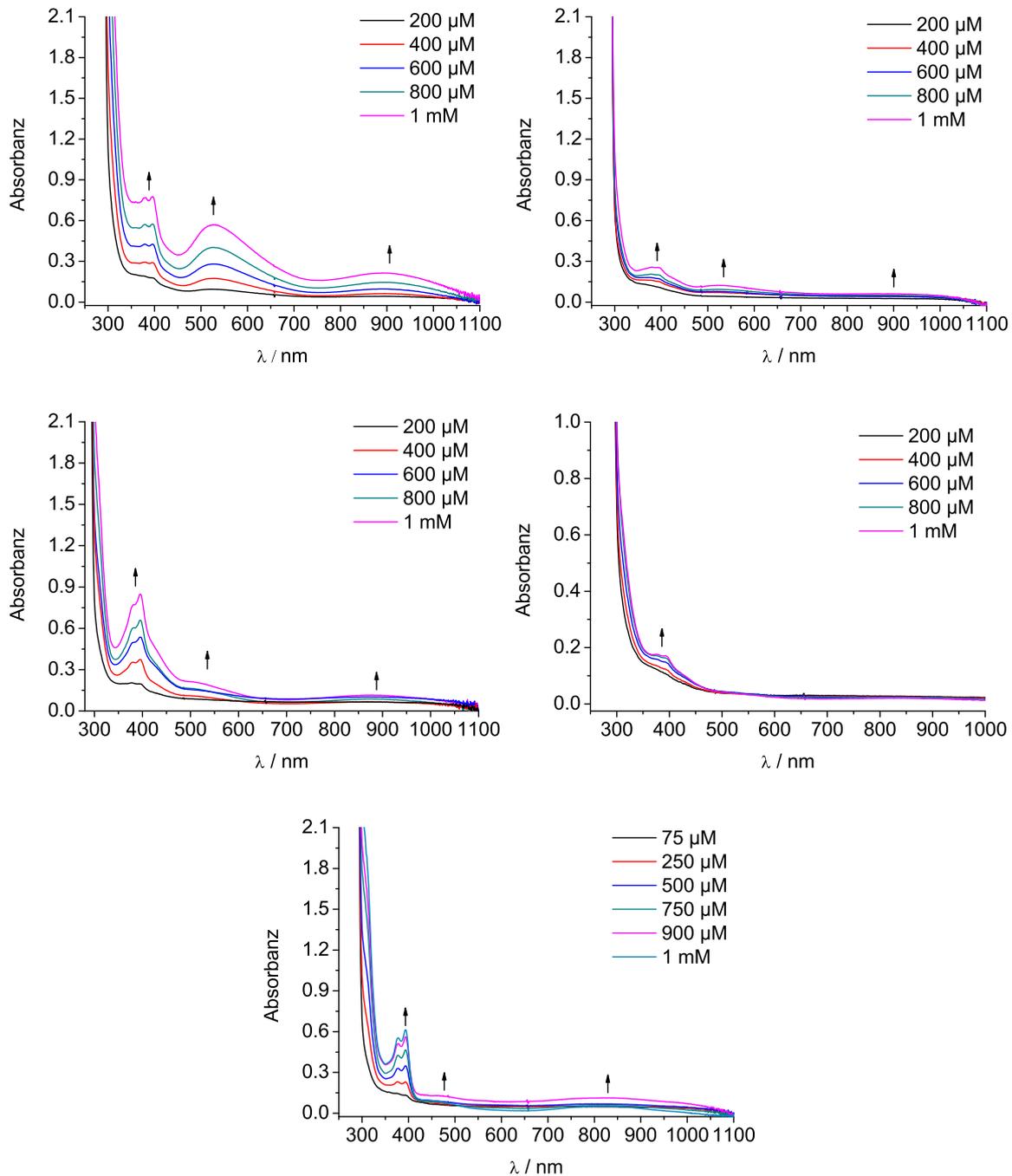


Abbildung 9.10: UV/Vis-Absorptionsspektren, entstanden durch Oxidation einer 25 mM Lösung von 3,5-DTBC-H₂ in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan in Gegenwart des jeweiligen Kupfer(I)-Komplexes. Die Komplexkonzentration variiert zwischen 75 μM und 1 mM. (Schichtdicke: $l = 1$ cm). Oben links: CuLoL1; oben rechts: CuLoL2; Mitte links: CuLoL3; Mitte rechts: CuL_{imz}1; unten: CuBIMZ.

Für jede Messung wurde unter aeroben Bedingungen in einen 10 mL Messkolben jeweils eine konstante Menge des Substrates 3,5-DTBC-H₂ (25 mM) eingewogen und in ca. 8 mL sauerstoffgesättigtem Dichlormethan gelöst. Zuvor wurde unter anaeroben Bedingungen für jeden Kupfer(I)-Komplex 10 mL einer 1 mM Maßlösung in Dichlormethan angesetzt, aus der für jede Messung eine definierte Menge im Bereich zwischen 75 μ M und 1 mM entnommen und ohne vorherigen Sauerstoffkontakt in die Reaktionslösung gespritzt wurde. Anschließend wurde der Messkolben mit sauerstoffgesättigtem Dichlormethan bis zur Eichmarke aufgefüllt. Nach Injektion des Katalysators wurde die entstandene Doppelbande bei 377 nm und 394 nm nach 120 s UV/Vis-spektroskopisch detektiert (Abbildung 9.11).

Die Auftragung der Reaktionsrate gegen die unterschiedlichen Komplexkonzentrationen ergab einen linearen Zusammenhang und impliziert damit eine Reaktion erster Ordnung (Abbildung 9.11).

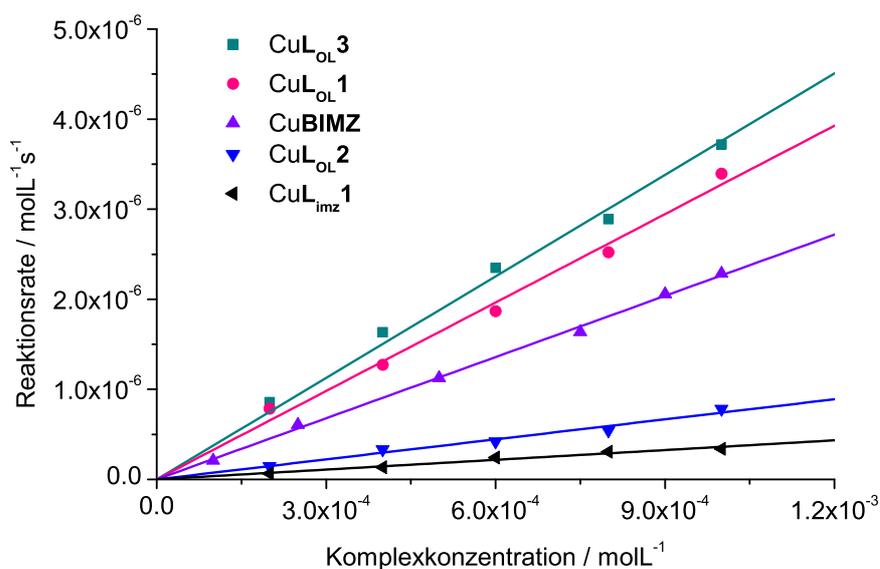


Abbildung 9.11: Abhängigkeit der Reaktionsrate der Bildung von 3,5-DTBSQ bei unterschiedlichen Komplexkonzentrationen, katalysiert durch CuL_{OL1-3}, CuL_{imz1} und CuBIMZ. Die Messungen wurden in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan durchgeführt.

Die Auftragung liefert wie erwartet die gleiche Reaktivitätsabstufung, die auch bei der Variation der Substratkonzentration gefunden wurde:



Die Abhängigkeit der Reaktionsrate von der Komplexkonzentration liefert unter anderem einen Hinweis auf einen mononuklearen oder einen binuklearen Mechanismus. So kann hier für alle Kupfer(I)-Komplexe ein mononuklearer Mechanismus postuliert werden, da ein binuklearer Mechanismus einen quadratischen Anstieg der Reaktionsrate zur Folge hätte, der bei der Variation der Komplexkonzentration nicht gefunden wurde.^[138, 223, 224]

9.5 Stöchiometrische Oxidations-Reaktion und mechanistische Studien anhand von CuLoL1

Bei genauer Betrachtung der Absorptionsspektren in Abbildung 9.7 und Abbildung 9.10 fällt auf, dass sich neben der charakteristischen Doppelbande des freien 3,5-DTBSQ zwei weitere Absorptionsbanden bei 523 nm und 900 nm entwickeln. Diese nehmen ebenso wie die Semichinonbande an Intensität zu, wenn die Substrat- oder die Katalysatorkonzentration erhöht wird.

Diese Absorptionsmerkmale sind vergleichbar mit denen des violetten DBED-Kupfer(II)-Semichinonradikal-Komplexes (DBED = *N,N'*-Di-*tert*-butylethylen-diamin) publiziert von OTTENWAELDER *et al.*^[164]. Detektiert wurde dieser bei der katalytischen Tyrosinase-Reaktion von 4-*tert*-Butylphenol mit $[\text{Cu(I)(DBED)(CH}_3\text{CN)}_2]\text{PF}_6$. Interessant ist hierbei, dass der DBED-Kupfer(II)-Semichinonradikal-Komplex eine intensive Absorptionsbande bei 545 nm und eine schwächere Bande bei < 900 nm aufweist. Die Identität des DBED-Kupfer(II)-Semichinonradikal-Komplexes wurde durch Massenspektrometrie und Einkristallstrukturanalyse belegt.

Ausgehend von den guten Übereinstimmungen im UV/Vis-Spektrum wurde vermutet, dass die in dieser Arbeit untersuchten Modellsysteme der Catechol Oxidase ebenfalls Kupfer(II)-Semichinonradikal-Komplexe als Intermediat während der Oxidations-Reaktion generieren. Die Intensitäten der Banden bei 523 nm und 900 nm in Abbildung 9.7

und Abbildung 9.10 unterscheiden sich in Abhängigkeit des eingesetzten Katalysators. Die ausgeprägteste Kupfer(II)-Semichinonradikal-Bande wurde bei dem Einsatz von CuLoL1 gefunden, während im Fall von CuBIMZ die schwächste Absorptionsbande bei 523 nm sichtbar ist. Aus diesem Grunde wurden, stellvertretend für alle Kupfer-Komplexe, die folgenden Untersuchungen mit CuLoL1 durchgeführt.

Um nähere Informationen über die Konstitution der Verbindung zu erhalten, wurde versucht den Semichinon-Komplex zu isolieren. Hierfür wurde eine 500 μM (0.4 mL) Lösung des CuLoL1-Komplexes in sauerstofffreiem Dichlormethan, zu einer Lösung, bestehend aus 1 Äq. 3,5-DTBC-H₂ (4.6 mL), gelöst in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan, hinzugefügt und ca. 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung in 30 mL -60 °C kaltes Pentan gegeben. Nach ca. 3 min fiel ein violetter Feststoff aus, der abfiltriert wurde. Jedoch konnte direkt nach Entfernen des Lösungsmittels eine Entfärbung des violetten Feststoffes beobachtet werden, was den Zerfall des [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF₆-Komplexes vermuten ließ. Da eine massenspektrometrische Untersuchung des farblosen Rückstands keinen Hinweis auf den Semichinonradikal-Komplex lieferte, ist davon auszugehen, dass die Isolierung aufgrund der geringen Stabilität nicht möglich war.

Da es bis jetzt nicht gelang den Semichinonradikal-Komplex zu isolieren, wurde dieser wie oben beschrieben *in-situ* generiert. Nach Zugabe von CuLoL1 zu dem Substrat wurde nach 10 min und 25 min ein Massenspektrum aufgenommen. Die Massenspektren zeigen einen intensiven Massepeak bei $m/z = 510.0$, welche dem [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]⁺ zugeordnet werden kann (Abbildung 13.2 und Abbildung 13.3) und somit ein weiteres Indiz für die Existenz des Kupfer-Semichinonradikals liefert.

Um dennoch einen Eindruck über die Struktur des Kupfer-Semichinon-Komplexes zu erhalten, wurde mittels DFT-Rechnungen eine Geometrie-Optimierung von [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]⁺ durchgeführt (Abbildung 9.12).^[225] Alle quantenchemischen Rechnungen wurden mit der ORCA-Suite Version 3.0.3 durchgeführt.^[226] Die Strukturoptimierung erfolgte mit dem meta-GGA-Funktional TPSS^[227] und dem triple-zeta-Ahlrichs-Basissatz def2-TZVP^[85] sowie dem Fitting-Basissatz def2-TZVP/J.^[228] Zur Beschleunigung der Rechnung wurde hierfür auf die RI-Approximation zurückgegriffen.^[229, 230, 231] Zusätzlich wurden relativistische Effekte mit dem ZORA-

Hamiltonian^[232, 233] und der entsprechenden Rekonstruktion des Basissatzes mit einbezogen.^[233]

Um der Austauschwechselwirkung zwischen dem Metallzentrum und dem Semichinon-Liganden Rechnung zu tragen, wurde das Flipspin-Feature verwendet, wobei der Spinflip auf dem Metallatom sowie den Sauerstoff- und Kohlenstoffatomen des Semichinons erlaubt wurde. Die finale M_S -Quantenzahl wurde auf 0 festgelegt. Die DTF-optimierte Struktur wurde mit dem Programm POV-Ray Version 3.6 gerendert und mit Diamond 3.1 abgebildet.

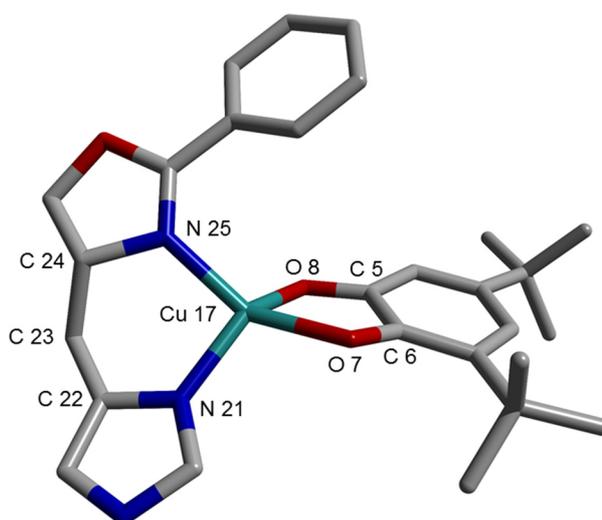


Abbildung 9.12: DFT-optimierte Struktur von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})(3,5\text{-DTBSQ})]^+$. Die Wasserstoffatome wurden für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, O: rot, Cu: türkis.

Die optimierte Struktur weist ein tetraedrisches Kupfer-Zentrum auf. Die wichtigsten Bindungswinkel ($^\circ$) und Bindungslängen (\AA) sind in Tabelle 9.4 aufgeführt.

Tabelle 9.4: Ausgewählte Bindungswinkel ($^\circ$) und Bindungslängen (\AA) der DFT-optimierten Verbindung $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})(3,5\text{-DTBSQ})]^+$.

Cu(17)-N(25)	1.9575	Cu(17)-O(7)	1.9931
Cu(17)-N(21)	1.9597	Cu(17)-O(8)	1.9788
N(25)-Cu(17)-N(21)	96.364	N(21)-Cu(17)-O(8)	137.366
N(25)-Cu(17)-O(7)	145.422	C(22)-C(23)-C(24)	112.208
N(25)-Cu(17)-O(8)	103.106	Cu(17)-O(8)-C(5)	113.485
N(21)-Cu(17)-O(7)	103.187	Cu(17)-O(7)-C(6)	113.413

Um einen detaillierteren Einblick in den Verlauf der Oxidations-Reaktion zu erhalten, sollte der Zusammenhang zwischen der Generierung des Semichinonradikal-Komplexes und dem eigentlichen Oxidationsprodukt 3,5-DTBCQ näher untersucht werden. Nachdem es gelang den $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)}]^+$ -Komplex *in-situ* zu generieren, konnte die Bildung und der Zerfall des Kupfer(II)-Semichinonradikal-Komplexes UV/Vis-spektroskopisch verfolgt werden. Die Variation der Substratkonzentration hat ergeben, dass die Reaktion zum Semichinon umso langsamer vollzogen wird, je weniger Substrat zu Verfügung steht. Da die Detektion des Reaktionsverlaufes eine langsame Bildung bzw. Zerfall von $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)}]\text{PF}_6$ voraussetzt, wurde ein stöchiometrischer Ansatz für die Messung gewählt.

Hierfür wurde bei Raumtemperatur eine $500 \mu\text{M}$ Lösung des CuLoL1 -Komplexes (0.2 mL) in sauerstofffreiem Dichlormethan, zu einer Lösung, bestehend aus 1 Äq. 3,5-DTBC- H_2 (2.3 mL), gelöst in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan, hinzugefügt und alle 30 s ein UV/Vis-Spektrum aufgenommen (Abbildung 9.13).

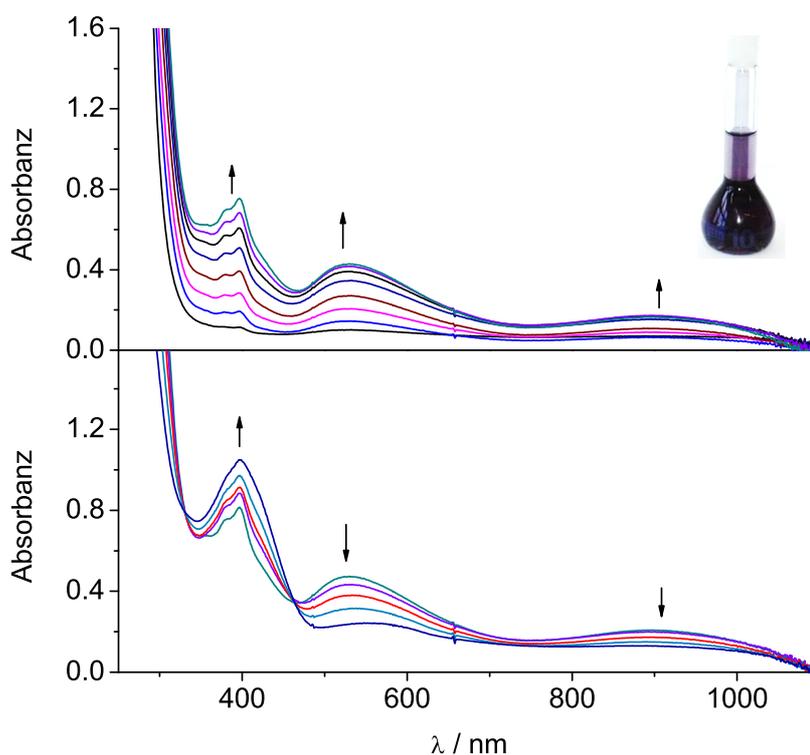


Abbildung 9.13: UV/Vis-Absorptionsspektren, beobachtet während der Oxidation einer $500 \mu\text{M}$ Lösung von CuLoL1 und 1 Äq. 3,5-DTBC- H_2 in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan (Schichtdicke: $l = 1 \text{ mm}$). Oben: optische Spektren während der ersten 25 min; unten: optische Spektren zwischen 25 min und 600 min.

Während der ersten 25 min konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Absorptionsbande von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})(3,5\text{-DTBSQ})]\text{PF}_6$ bei 523 nm und 900 nm beobachtet werden. Hierbei färbte sich die anfangs schwach gelbe Lösung dunkel lila. Interessant ist, dass die Bildung des Semichinonradikal-Komplexes begleitet wird durch den zeitgleichen Anstieg der Doppelbande des freien Semichinons bei 377 nm und 394 nm (Abbildung 9.13 oben). Nach ca. 25 min nehmen die Intensitäten der Banden bei 523 nm und 900 nm stetig ab, was den Zerfall von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})(3,5\text{-DTBSQ})]\text{PF}_6$ impliziert. Gleichzeitig findet eine graduelle Umwandlung von freiem 3,5-DTBSQ zu 3,5-DTBQ statt (Abbildung 9.13 unten). Hierbei wandelt sich die Doppelbande in eine einzelne Bande um, die sich zu 404 nm verschiebt. Gleichzeitig bildet sich eine Bande bei 560 nm aus, die ebenfalls dem 3,5-DTBQ zuzuordnen ist. Begleitet wurde dies mit einer Farbänderung von dunkel violett nach grün/braun. Abbildung 9.14 verdeutlicht noch einmal die beschriebenen Unterschiede der Absorptionsspektren nach 25 min und 600 min.

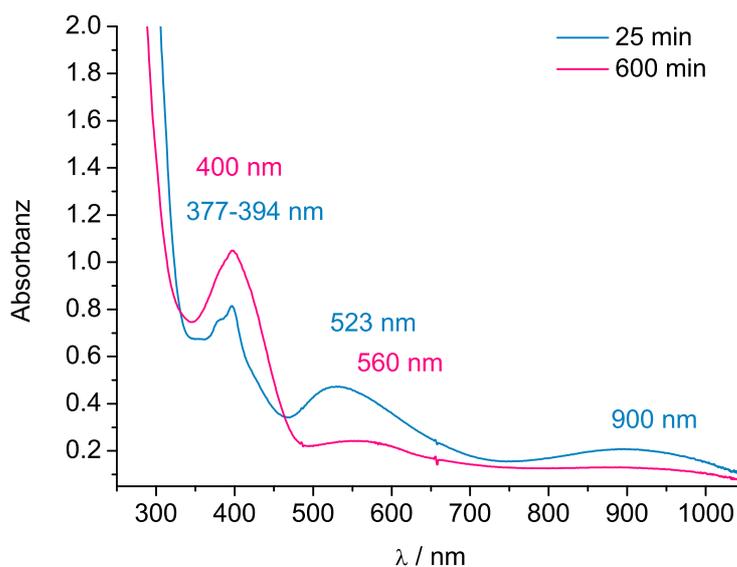


Abbildung 9.14: UV/Vis-Absorptionsspektren, beobachtet während der Oxidation einer $500 \mu\text{M}$ Lösung von CuLoL1 und 1 Äq. 3,5-DTBC- H_2 in sauerstoffgesättigtem Dichlormethan (Schichtdicke: $l = 1 \text{ mm}$). Vergleich des Spektrums nach 25 min (türkis) mit dem nach 600 min (rot).

Die Kombination der experimentellen Beobachtungen erlaubt es einen Mechanismus zu postulieren, der während der Oxidations-Reaktion von 3,5-DTBC- H_2 durchlaufen wird (Abbildung 9.15).

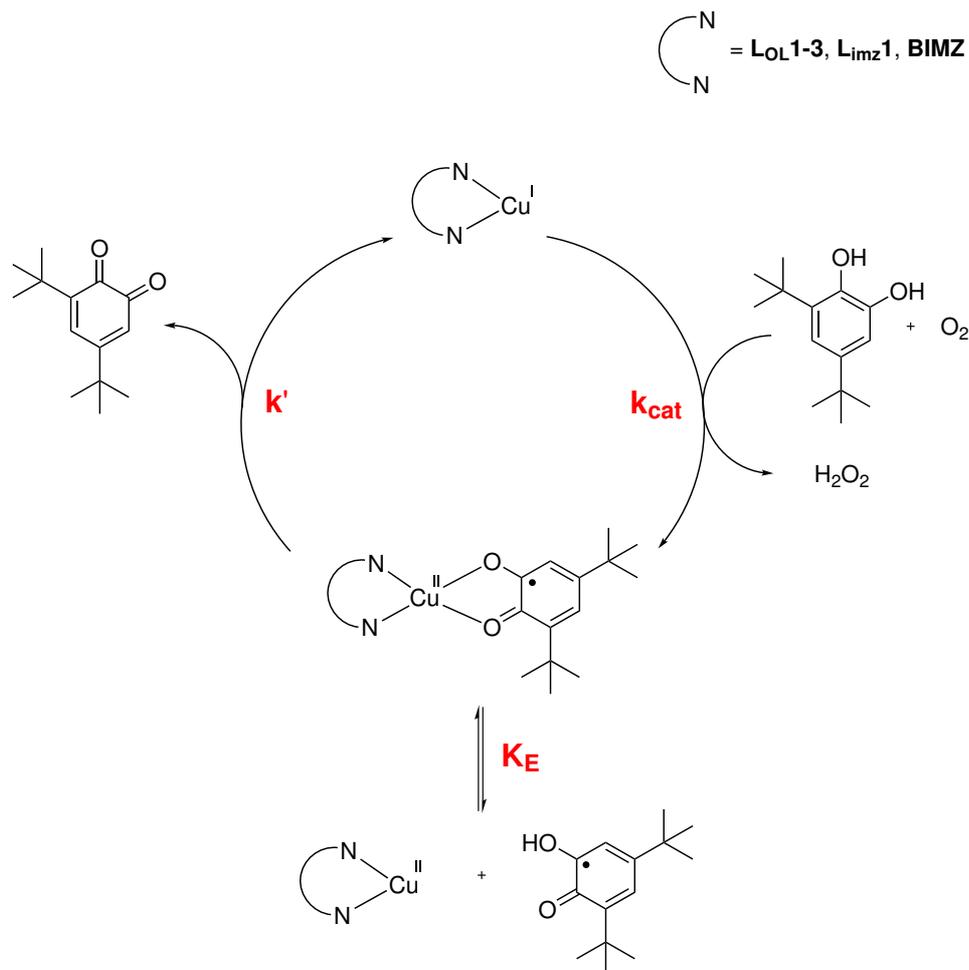


Abbildung 9.15: Postulierter Mechanismus für die Umwandlung von 3,5-DTBC-H₂ in 3,5-DTBQ, katalysiert durch unterschiedliche Kupfer(I)-Komplexe.

Ausgehend von dem jeweiligen Kupfer(I)-Komplex und 3,5-DTBC-H₂, führt die Injektion von molekularem Sauerstoff zunächst zu dem dazugehörigen Kupfer(II)-Semichinon-Komplex mit der Geschwindigkeitskonstante k_{cat} und der Freisetzung von Wasserstoffperoxid oder Wasser. Dieser Semichinon-Komplex steht wiederum im Gleichgewicht mit freiem Semichinon und einer Kupfer(II)-Spezies (Gleichgewichtskonstante K_E), da die Bildung des Semichinon-Komplexes und des freien 3,5-DTBSQ immer gleichzeitig beobachtet wurde. Anschließend findet eine langsame Umwandlung des freien Semichinons über den Semichinon-Komplex in das Produkt 3,5-DTBQ mit einer Geschwindigkeitskonstante k' statt.

Die Oxidation der Kupfer(I)-Komplexe und der des Catechols können prinzipiell unter Generierung von Wasser oder Wasserstoffperoxid stattfinden. Ausgehend von einer

linearen Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit bei Variation der Katalysatorkonzentration (Abbildung 9.11), ist ein mononuklearer Mechanismus und damit die Bildung von Wasserstoffperoxid favorisiert. Da de facto kein Wasserstoffperoxid während der Katalyse nachgewiesen werden konnte (Kapitel 9.2), wird vermutet, dass die Katalase-Aktivität der Kupfer(I)-Komplexe, die in Kapitel 9.3 nachgewiesen werden konnte, das gebildete Wasserstoffperoxid in Wasser und molekularen Sauerstoff überführt.

Um kinetische Daten aus der stöchiometrischen Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ mittels CuLoL1 zu erhalten, wurde eine zeitabhängige Auftragung der Bildung und des Zerfalls von [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF₆ angefertigt. Die jeweilige Auftragung der Absorbanz bei 523 nm und 900 nm gegen die Zeit ermöglichte es, den Zeitpunkt bei 25 min zu bestimmen, an dem die Konzentration von [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF₆ maximal ist (Abbildung 9.16).

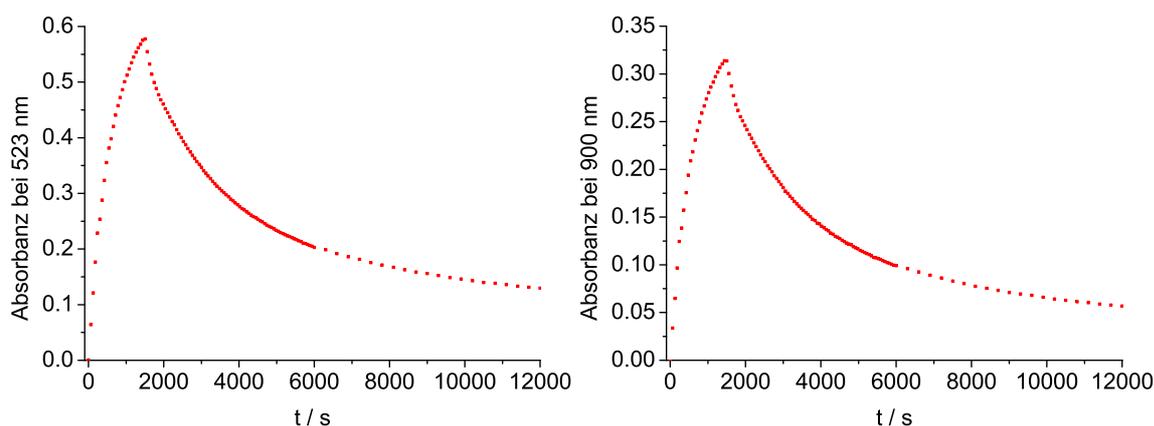


Abbildung 9.16: Zeitabhängige Bildung und Zerfall von [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF₆ bei 523 nm und 900 nm.

Der Kurvenverlauf deutet auf eine schnelle Bildung des Semichinonradikal-Komplexes hin, während aufgrund der flacher abfallenden Kurve ein langsamer Zerfall vermutet wird. Die Kurvenverläufe bei 523 nm und 900 nm sind identisch, was dafür spricht, dass beide Absorptionsbanden einem Molekül zugeordnet werden können.

Die Konzentration des Semichinon-Komplexes wurde ausgehend von der Absorptionsbande bei 900 nm ($\epsilon = 10830 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) bestimmt, da die Bildung von 3,5-DTBQ neben der Absorptionsbande bei 400 nm eine weitere Absorptionsbande bei 560 nm aufweist, die aufgrund der Lage eine quantitative Bestimmung der Absorbanz bei 523 nm ($\epsilon = 5890 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) nicht zulässt (Abbildung 9.17). Die Konzentration von

3,5-DTBSQ, die der Absorptionsbande bei 385 nm ($\epsilon = 1900 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) zu entnehmen war, zeigt ein Sättigungsverhalten, da das freie Semichinon direkt zum *ortho*-Chinon weiteroxidiert wird und eine einzelne Bestimmung der Komponenten aufgrund der ähnlichen Bandenlage und vergleichbaren Intensitäten nicht möglich ist.

Das Maximum der Konzentration des freien Semichinons ist, ebenso wie das Maximum der Konzentration des Semichinon-Komplexes, nach 25 min erreicht und lässt die Schlussfolgerung zu, dass bis zu diesem Zeitpunkt beide im Gleichgewicht vorliegen. Mit der langsamen Abnahme des Semichinon-Komplexes findet dann die Umwandlung in das Chinon statt, was schon in Abbildung 9.13 gezeigt wurde. Anhand der Auftragung der Konzentration von 3,5-DTBSQ und $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)}]^+\text{PF}_6$ gegen die Zeit, konnte bei 25 min ein Verhältnis der beiden Komponenten von 10 : 1 ermittelt werden.

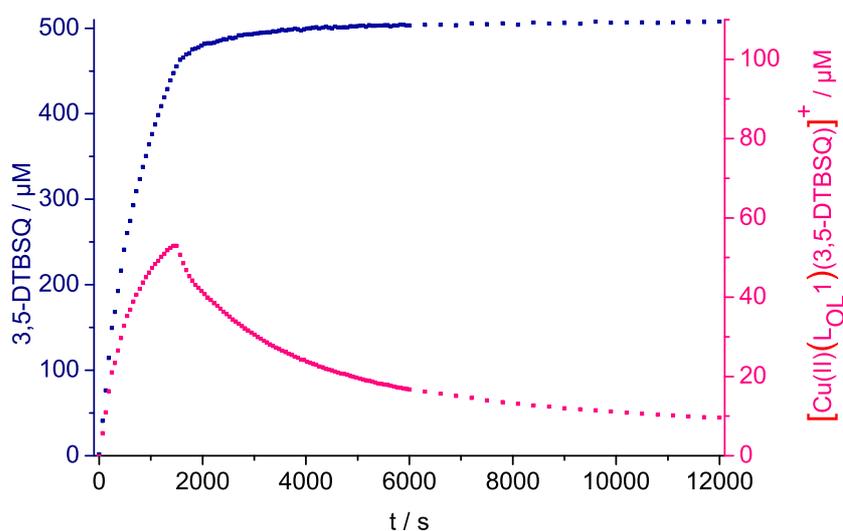


Abbildung 9.17: Rot: Zeitabhängige Bildung und Zersetzung von $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)}]^+\text{PF}_6$ bei 900 nm. Blau: Zeitabhängige Bildung und Zersetzung von 3,5-DTBSQ bei 385 nm und anschließende Oxidation zu 3,5-DTBQ.

Anhand dieser Auftragungen ist es möglich, die Reaktionsgeschwindigkeiten der Bildung und des Zerfalls von 3,5-DTBSQ zu ermitteln. Die Anfangssteigung der Kurve für die Bildung von 3,5-DTBSQ ist in Abbildung 9.18 dargestellt und weist eine Reaktionsgeschwindigkeit von $6.3 \cdot 10^{-7} \text{ molL}^{-1}\text{s}^{-1}$ bzw. $3.8 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ auf.

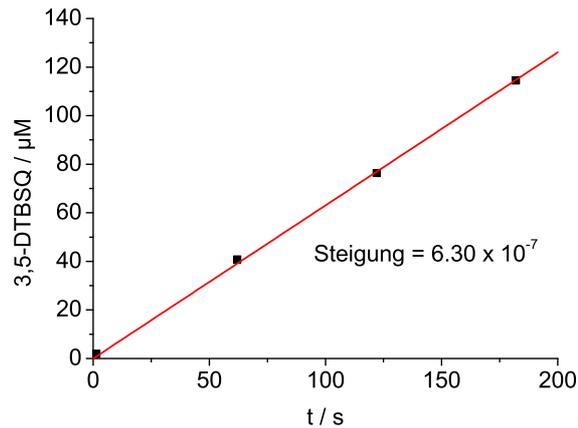
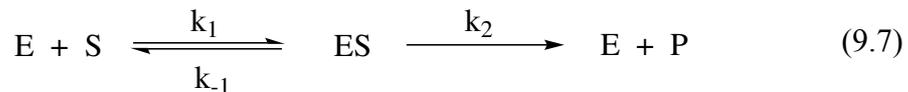


Abbildung 9.18: Zeitabhängige Auftragung der 3,5-DTBSQ-Konzentration bei 900 nm.

Um die hierdurch erhaltene Reaktionsgeschwindigkeit für die Bildung von 3,5-DTBSQ mit den Daten aus Tabelle 9.3 zu vergleichen, wurde die Michaelis-Menten-Gleichung herangezogen (Gl. 9.8, Gl. 9.9)



$$v = \frac{k_2 \cdot [E]_0}{1 + K_M} \quad (9.8)$$

Wobei K_M wie folgt definiert ist:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (9.9)$$

In Übereinstimmung mit den in dieser Arbeit erhaltenen Resultaten, lässt sich aus Gleichung 9.8 ableiten, dass bei hohen Substratkonzentrationen die Geschwindigkeit einen maximalen Wert erreicht, welcher nicht mehr von der Substratkonzentration abhängig ist. Damit gilt für den Fall $[S]_0 \gg K_M$:

$$v = v_{\max} = k_2 \cdot [E]_0 \quad (9.10)$$

Nach Einsetzen von v_{\max} in Gleichung 9.8 erhält man:

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]_0}{[S]_0 + K_M} \quad (9.11)$$

Die Werte für v_{\max} und K_M für CuLoL1 können der Tabelle 9.3 entnommen werden. Für die Substratkonzentration wurde die bei dem stöchiometrischen Ansatz verwendete Konzentration von $500 \mu\text{M}$ eingesetzt. Damit ergibt sich auf Basis der in Tabelle 9.3 ermittelten Parameter eine Reaktionsgeschwindigkeit von $3.1 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ für die Bildung von 3,5-DTBSQ. Somit konnte gezeigt werden, dass eine gute Übereinstimmung zwischen der in diesem Abschnitt ermittelten Reaktionsgeschwindigkeit der Bildung von 3,5-DTBSQ und der Reaktionsgeschwindigkeit besteht, welche auf Grundlage der Parameter v_{\max} und K_M berechnet wurde.

Analog zu der Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit der Anfangssteigung von 3,5-DTBSQ, wurde die Geschwindigkeit der Bildung von $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF_6$ berechnet (Abbildung 9.19, links).

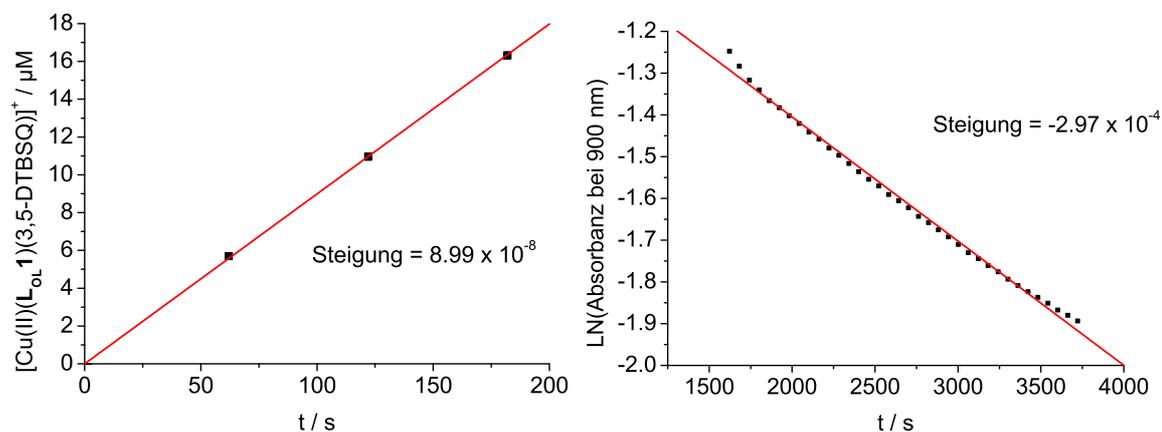


Abbildung 9.19: Links: Auftragung der Konzentration von $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF_6$ bei 900 nm gegen die Zeit; rechts: Auftragung von LN(Absorbanz) der Zersetzung von 3,5-DTBSQ bei 900 nm gegen die Zeit.

Mit $5.3 \cdot 10^{-6} \text{ molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ beträgt die Geschwindigkeit der Bildung von $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF_6$ damit knapp ein Zehntel der Geschwindigkeit der Bildung von 3,5-DTBSQ. Diese Tatsache ließ sich auch schon aus Abbildung 9.17 nach 25 min

Reaktionszeit ableiten, bei der die Konzentrationen von 3,5-DTBSQ und $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]PF_6$ maximal sind.

Der anschließende monomolekulare Zerfall des Kupfer(II)-Semichinon-Komplexes, welcher erster Ordnung ist, ergibt eine Geschwindigkeitskonstante von $k' = 1.8 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (Abbildung 9.19, rechts). Diese Geschwindigkeitskonstante ist ebenfalls gleichbedeutend für die Bildung des eigentlichen Endproduktes (3,5-DTBQ) der Catechol Oxidase-Reaktion, da der Zerfall mit der Bildung des *ortho*-Chinons einhergeht.

Über mögliche mechanistische Szenarien kann zu diesem Zeitpunkt jedoch nur spekuliert werden. Eine Variation der Catechol Oxidase-Reaktion, die sich aus den oben vorgestellten Daten ergibt, ist in Abbildung 9.20 dargestellt.

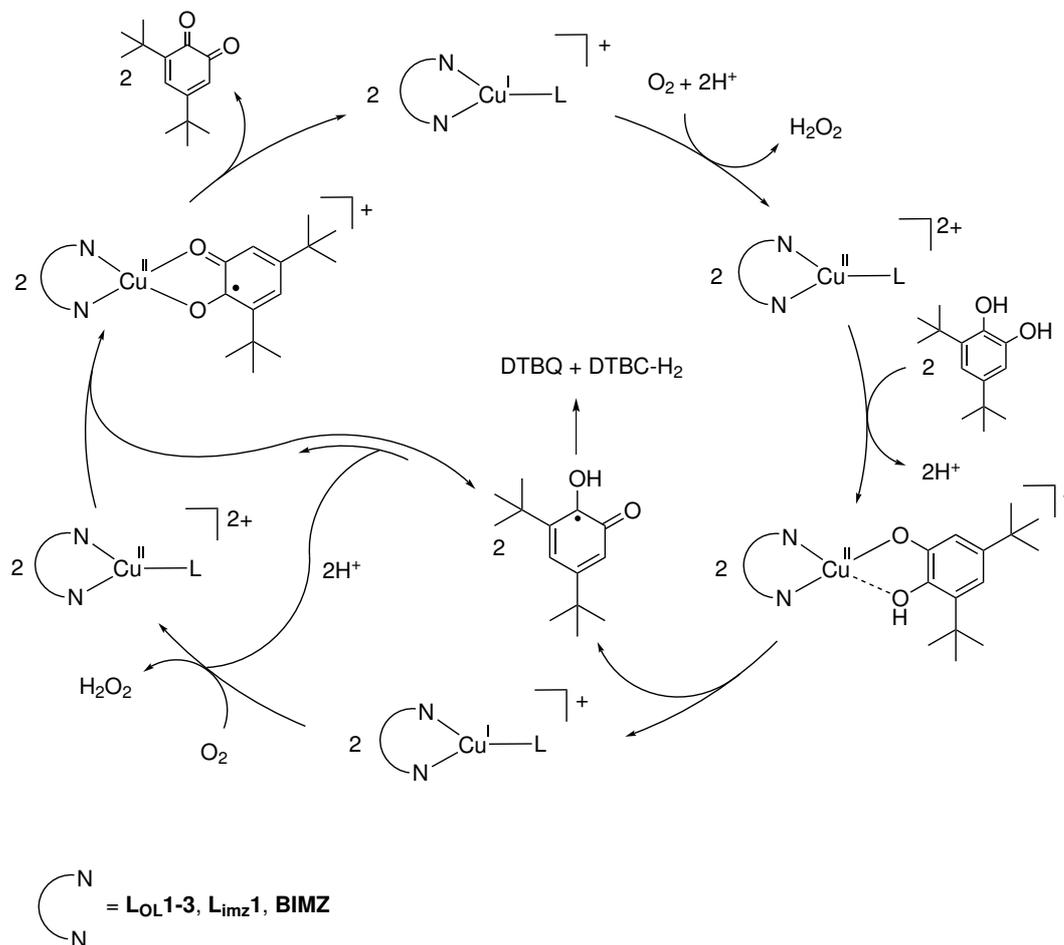


Abbildung 9.20: Möglicher mononuklearer Mechanismus der Oxidations-Reaktion von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBQ, L = Lösungsmittel.

Beginnend mit dem jeweiligen Kupfer(I)-Komplex, führt die Injektion von molekularem Sauerstoff zunächst zur Oxidation des Kupfer(I)-Zentrums zu Kupfer(II). In Anwesenheit von 3,5-DTBC-H₂ bildet sich anschließend ein Kupfer(II)-Substrat-Addukt. Eine Eielektronenübertragung des Kupfer(II)-Zentrums zum 3,5-DTBC-H und gleichzeitigem Zerfall des Kupfer-Substrat-Adduktes führt zur Freisetzung von freiem Semichinon und des Kupfer(I)-Komplexes. Der Kupfer(I)-Komplex wird aufgrund des Überschusses an molekularem Sauerstoff direkt wieder zum Kupfer(II)-Komplex oxidiert, welcher entweder erneut mit einem Catecholmolekül reagieren kann oder mit freiem Semichinon unter Abspaltung eines Protons den [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]⁺-Komplex bildet. Durch erneute Eielektronenübertragung des Kupfer(II)-Zentrums zum 3,5-DTBSQ wird 3,5-DTBQ als Produkt abstrahiert und der resultierende Kupfer(I)-Komplex wieder in den Reaktionszyklus zurückgeführt. Zu beachten ist, dass das während der Reaktion freigesetzte 3,5-DTBSQ als Nebenreaktion ebenfalls zum Produkt 3,5-DTBQ und Edukt 3,5-DTBC-H₂ disproportionieren kann.

Eine andere Variante stellt ein radikalischer Mechanismus dar (Abbildung 9.21). Das Massenspektrum des *in-situ* hergestellten Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]⁺-Komplexes zeigt Fragmente, die auf einen radikalischen Mechanismus hinweisen könnten (Abbildung 13.2).

MS (ESI, CH₃Cl): m/z (%)= 510.0 (25 %) [Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]⁺, 321.9 (16 %) [Cu(II)(LoL1) + O₂]⁺, 307.8 (50 %) [Cu(II)(LoL1) + OH]⁺, 290.1 (100 %) [Cu(I)(LoL1)]⁺.

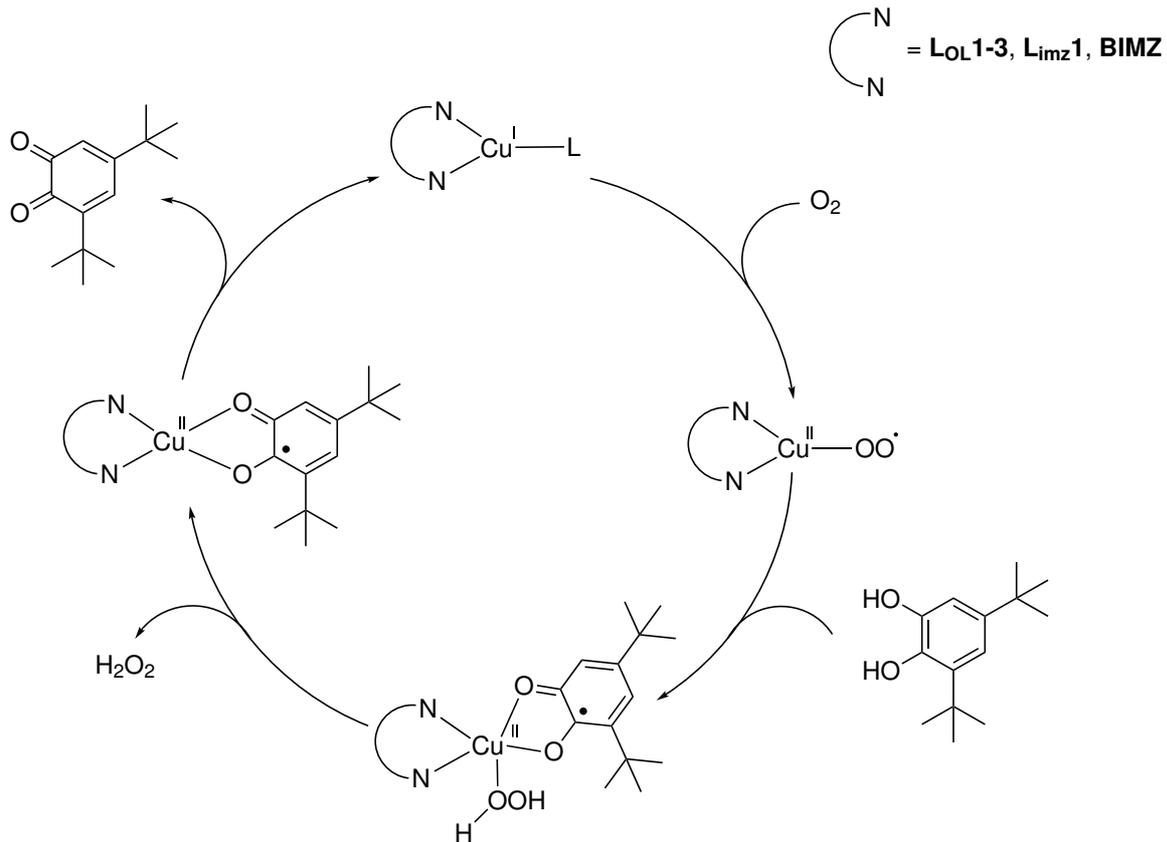


Abbildung 9.21: Möglicher radikalischer Mechanismus der Oxidationsreaktion von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBCQ, L = Lösungsmittel.

Durch Einleiten von molekularem Sauerstoff könnte unter gleichzeitiger Oxidation von Kupfer(I) zu Kupfer(II) der Sauerstoff als Superoxid an das Kupfer(II)-Zentrum binden. Durch die Zugabe von Catechol werden die Protonen auf das Superoxid übertragen. Im letzten Reaktionsschritt wird unter Freisetzung von Wasserstoffperoxid der $\text{Cu(II)(LolL1)(3,5-DTBSQ)]}^+$ -Komplex erhalten, welcher unter Abspaltung von Chinon den ursprünglichen Katalysator freisetzt. Das während der Reaktion generierte Wasserstoffperoxid ist in der Lage das Catechol 3,5-DTBC-H₂ zu Semichinon und Wasser zu oxidieren, was bei diesem Zyklus das im Experiment gefundene freie Semichinon erklären würde.

10 Mechanistische Studien der Tyrosinase-Reaktion^[184]

Die Modellchemie der Tyrosinase hat in den letzten Jahren immer mehr an Interesse gewonnen. Dennoch ist die Anzahl der katalytischen Modellsysteme, die in der Lage sind externe phenolische Substrate in ihre entsprechenden Chinone zu überführen, weiterhin sehr gering. Die Herausforderung besteht hierbei in dem Design des Ligandensystems, welches maßgeblich für die katalytische Aktivität verantwortlich ist. Da es bisher noch keine konkreten Anhaltspunkte gibt, welche Eigenschaften das Ligandendesign aufweisen muss, um eine hohe katalytische Effizienz zu zeigen, ist es wichtig, vorhandene Ligandendesigns systematisch zu modifizieren und den Einfluss auf die Katalyse zu untersuchen. Die in dieser Arbeit entwickelten Kupfer(I)-Modellkomplexe (CuLoL1, CuLoL2, CuLoL3, CuLimz1, CuBIMZ, Abbildung 9.1) werden im Folgenden auf ihre Fähigkeit hin untersucht, monophenolische Substrate in *ortho*-Position zu hydroxylieren und im Anschluss mittels Zweielektronen-Oxidation zum korrespondierenden Chinon zu oxidieren.

10.1 Katalytische Oxygenierungen

Die katalytische Tyrosinase-Aktivität wurde unter Anwendung der etablierten Réglie-/Bulkowski-Bedingungen untersucht.^[234] Hierfür wurde unter anaeroben Bedingungen eine 500 μM Lösung des entsprechenden Kupfer(I)-Komplexes (CuLoL1, CuLoL2, CuLoL3, CuLimz1, CuBIMZ) in abs. Dichlormethan gelöst, 50 Äq. des monophenolischen Substrates und 100 Äq. Triethylamin hinzugefügt. Anschließend wurde bei Raumtemperatur molekularer Sauerstoff in das Reaktionsgemisch eingeleitet und die Entstehung der jeweiligen *ortho*-Chinone aufgrund charakteristischer Absorptionsbanden UV/Vis-spektroskopisch verfolgt. Nachdem kein weiterer Anstieg der Chinonkonzentration im UV/Vis-Spektrum zu beobachten war, wurden 2.5 mL der Reaktionslösung entnommen und mit Dichlormethan auf eine 25 μM Lösung (50 mL) verdünnt. Analog zu Kapitel 9.1 wurden 20 mL einer 6 M HCl-Lösung hinzugefügt und zweimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert, um alle vorhandenen Kupferspezies zu eliminieren. Die vereinigten org. Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das

Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde anschließend mittels $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie untersucht.

10.1.1 Katalytische Oxygenierung von 2,4-Di-*tert*-butylphenol

Die ersten katalytischen Untersuchungen wurden für alle fünf Kupfer(I)-Systeme mit dem Substrat 2,4-Di-*tert*-butylphenol (2,4-DTBP-H) durchgeführt. Die bevorzugte Verwendung von 2,4-DTBP-H als Substrat begründet sich, neben der charakteristischen Absorptionsbande bei 403 nm ($\epsilon = 1830 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)^[166], durch eine hohe Stabilität des entsprechenden *ortho*-Chinons als gewünschtes Produkt (Abbildung 10.1). Aufgrund der sterisch anspruchsvollen *tert*-Butylgruppen wird das Molekül stabilisiert und Nebenreaktionen wie Polymerisationsreaktionen oder andere Folgereaktionen weitestgehend vermieden.

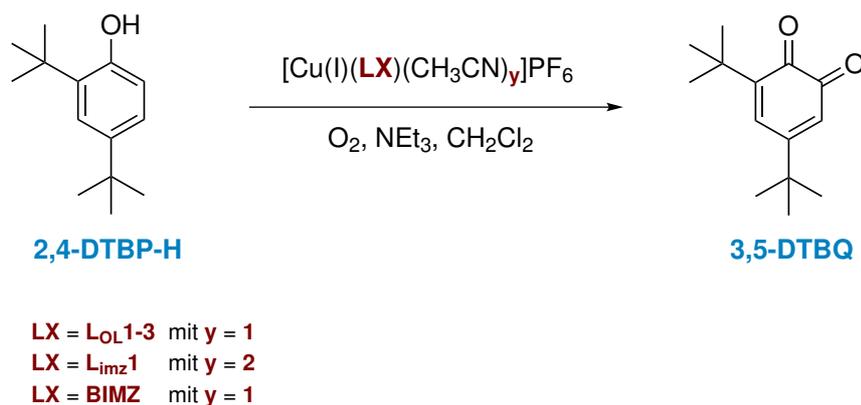


Abbildung 10.1: Oxygenierung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ mittels unterschiedlicher Kupfer(I)-Komplexe.

Die Oxygenierung wurde zunächst mit $\text{CuL}_{\text{imz}}\mathbf{1}$ durchgeführt, dessen Design aus dem $\text{CuL}_{\text{py}}\mathbf{1}$ Stammsystem abgeleitet wurde. Es zeigte sich in vorangegangenen Publikationen^[166-168], dass der Austausch des Heteroaromaten zu einer Änderung der Umsatzrate führt. Der biomimetische Aspekt spielte hierbei bislang eine untergeordnete Rolle. Ausgehend von dem nativen Protein, in dem drei Histidine an das aktive Zentrum koordinieren, wurde der Pyridin-Substituent gegen eine Imidazol-Einheit substituiert, um einen biomimetischen Charakter zu erhalten.

Die katalytische Bildung von 3,5-DTBQ aus 2,4-DTBP-H mittels CuL_{imz}**1** ist in Abbildung 10.2 gezeigt.

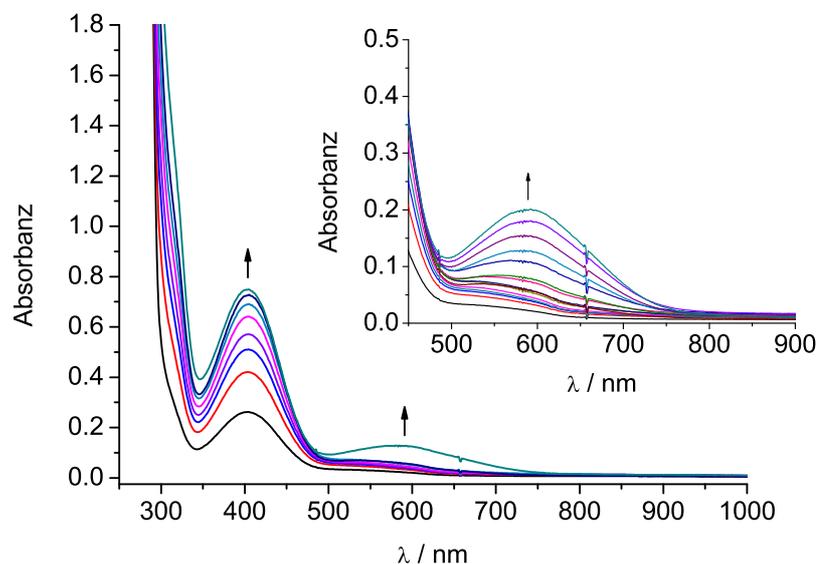


Abbildung 10.2: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuL_{imz}**1** (500 μ M) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 15 min detektiert, das letzte nach 6 h. Einschub: Ausbildung einer breiten Bande bei 600 nm. Das erste Spektrum wurde nach 15 min detektiert, das letzte nach 9 h, da die Absorbanz auch nach 6 h weiter zunimmt.

Die UV/Vis-Spektren zeigen eine deutliche Zunahme der Bande bei 403 nm innerhalb der ersten 3 h, bis die *ortho*-Chinonkonzentration die Sättigung erreicht hat. Durch Einleiten von molekularem Sauerstoff in die farblose Reaktionslösung fand zunächst ein Farbumschlag nach hellgelb statt. Nach Fortschreiten der Reaktion wurde die Lösung zunehmend dunkler. Zum Zeitpunkt der maximalen *turnover number* lag eine grün/braune Reaktionslösung vor, welche aus dem grün/braunen Produkt und inaktiven Kupfer(II)-Spezies resultierte. Die ermittelte maximale *turnover number* pro Dikupfereinheit (Cu₂O₂-Einheit) betrug 16 nach 3 h. Neben der erwarteten Absorptionsbande von 3,5-DTBQ bildete sich zusätzlich eine breite Bande bei 600 nm aus, auf die in Kapitel 10.6 näher eingegangen wird.

Die graphische Darstellung der *turnover number* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit und die *turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit ist in Abbildung 10.3 gezeigt. Die Graphik zeigt einen Anstieg der katalytischen Aktivität

innerhalb der ersten 3 h. Im Anschluss kann keine weitere Zunahme von 3,5-DTBQ verzeichnet werden. Die *turnover frequency* weist nach 15 min einen Wert von 0.38 auf.

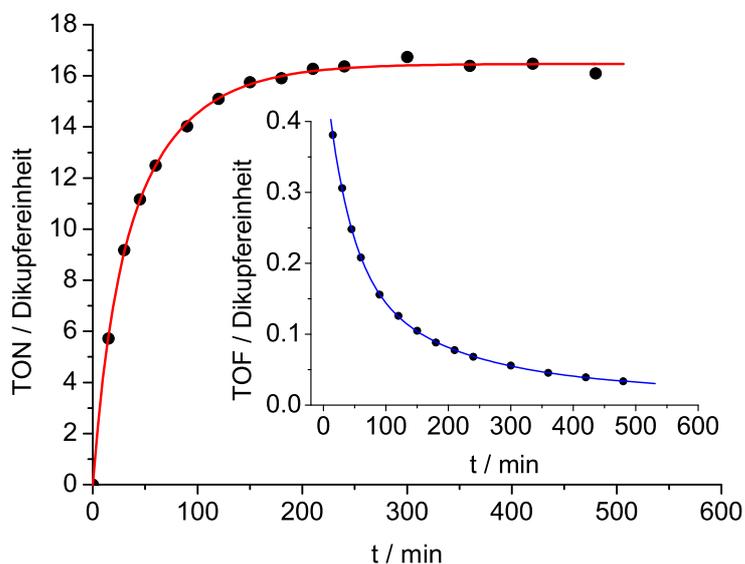


Abbildung 10.3: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 3,5-DTBQ pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Nach Beendigung der katalytischen Aktivität wurde ein HCl-Quench durchgeführt und der Rückstand NMR-spektroskopisch untersucht (Abbildung 10.4).

Das Spektrum weist ein Gemisch aus dem Produkt (3,5-DTBQ, blau), einem C-C-Kupplungsprodukt (3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol, rot) und dem eingesetzten 2,4-DTBP-H (grün) in einem Verhältnis von 13 : 35 : 52 auf. Die detaillierte Zuordnung der einzelnen Komponenten in den ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren wurde wie folgt getroffen:

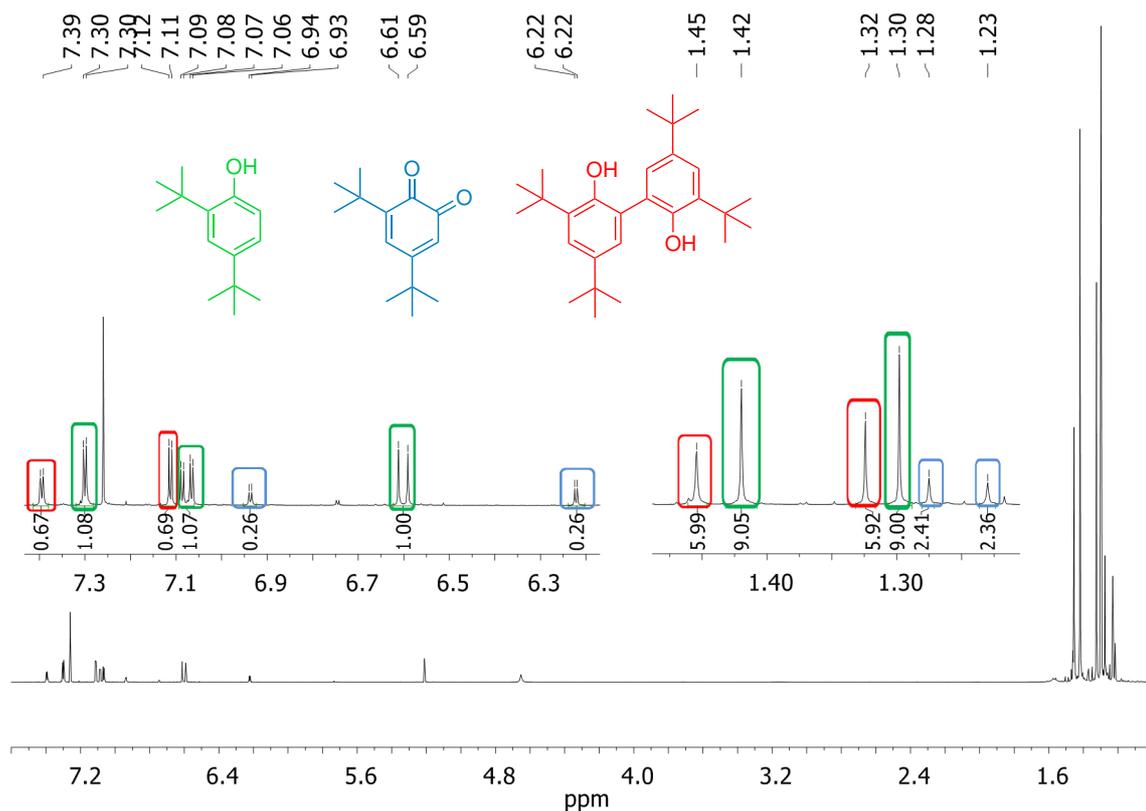


Abbildung 10.4: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach Oxygenierung von 2,4-DTBP-H mittels $\text{CuL}_{\text{imz}}\mathbf{1}$ für 3 h in Anwesenheit von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin (aufgenommen in CDCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K)

3,5-DTBPQ: $\delta = 6.94$ (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-4), 6.22 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-6), 1.28 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$), 1.23 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$) ppm.

2,4-DTBP-H: $\delta = 7.30$ (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-3), 7.08 (dd, $J = 8.2, 2.4$ Hz, 1H, H-5), 6.60 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-6), 1.42 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$), 1.30 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$) ppm.

3,3',5,5'-Tetra-tert-butyl-2,2'-biphenol: $\delta = 7.39$ (d, $J = 2.2$ Hz, 2H, H-4), 7.11 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H, H-6), 1.45 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$), 1.32 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K)

3,5-DTBPQ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 181.2$ (C, 1C, C-1), 180.2 (C, 1C, C-2), 163.5 (C, 1C, C-3), 150.1 (C, 1C, C-5), 133.6 (CH, 1C, C-4), 122.3 (CH, 1C, C-6), 36.2 (C, 1C, C-3- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 35.7 (C, 1C, C-5- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.4 (CH_3 , 3C, C-5- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.1 (CH_3 , 3C, C-3- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

2,4-DTBP-H (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 151.9 (C, 1C, C-1), 143.1 (C, 1C, C-4), 135.3 (C, 1C, C-2), 124.2 (CH, 1C, C-5), 123.7 (CH, 1C, C-3), 116.1 (CH, 1C, C-6), 34.6 (C, 1C, C-4-C(CH₃)₃), 34.4 (C, 1C, C-2-C(CH₃)₃), 31.8 (CH₃, 3C, C-4-C(CH₃)₃) 39.8 (CH₃, 3C, C-2-C(CH₃)₃) ppm.

3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 149.9 (C, 2C, C-2), 143.1 (C, 2C, C-3), 136.4 (C, 2C, C-5), 125.4 (C, 2C, C-1), 125.0 (CH, 2C, C-6), 122.5 (C, 2C, C-3), 35.4 (C, 2C, C-3-C(CH₃)₃), 34.9 (C, 2C, C-5-C(CH₃)₃), 31.8 (CH₃, 6C, C-5-C(CH₃)₃), 39.8 (CH₃, 6C, C-3-C(CH₃)₃) ppm.

Als weiterer potentieller Katalysator wurde **CuBIMZ** auf seine Tyrosinase-Aktivität getestet. Im Vergleich zu den erhaltenen UV/Vis-Spektren, welche bei der Tyrosinase-Reaktion mit **CuLimz1** beobachtet wurden, zeigt der Einsatz von **CuBIMZ** einige signifikante Unterschiede während der Katalyse. Innerhalb der ersten 2 h resultiert eine Doppelbande bei 378 nm und 396 nm, welche die Bildung von freiem 3,5-DTBSQ impliziert (Abbildung 10.5).^[210, 211, 220] Erst im weiteren Verlauf der Oxygenierung findet eine Verschiebung zu niedrigerer Energie statt und die charakteristische Absorptionsbande des 3,5-DTBQ bei 403 nm bildet sich aus (Abbildung 10.5, Einschub). Zeitgleich fand auch in diesem Experiment gegen Ende der Reaktion die Bildung einer breiten Bande bei 600 nm statt. Der Farbverlauf der Reaktion ist analog zu dem von **CuLimz1**.

Der Austausch des Katalysators hat zur Folge, dass die Reaktion langsamer und mit einer geringeren Umsatzrate verläuft. Die Katalyse erreicht ihre maximale *turnover number* von 9 nach 6 h. Die zeitabhängige Darstellung der *turnover number* pro Dikupfereinheit und der *turnover frequency* pro Dikupfereinheit ist in Abbildung 10.6 gezeigt. Der Wert der *turnover frequency* nach 15 min beträgt 0.18 für **CuBIMZ** und ist damit fast dreimal geringer als die *turnover frequency* für **CuLimz1**.

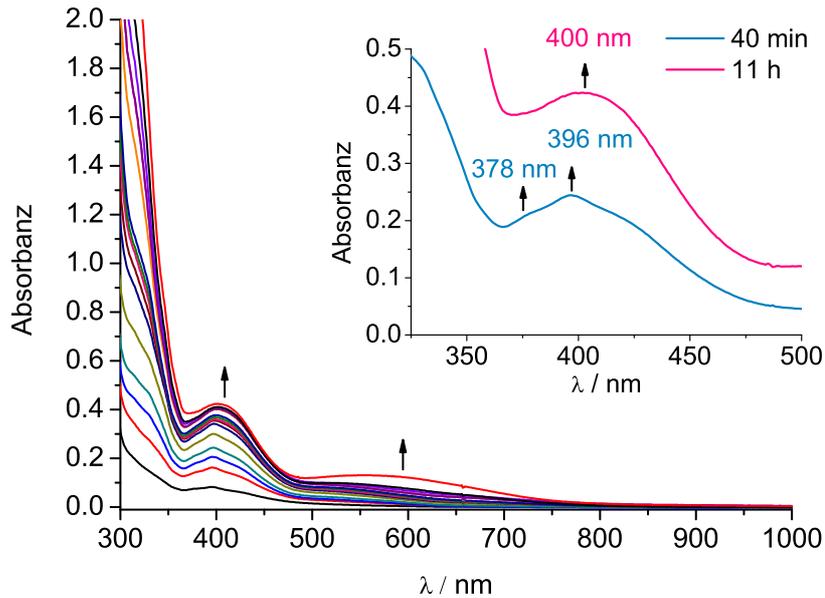


Abbildung 10.5: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ (500 μM) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 10 min detektiert, das letzte nach 11 h. Einschub: Vergleich der Spektren nach 40 min (blau) und 11 h (rot).

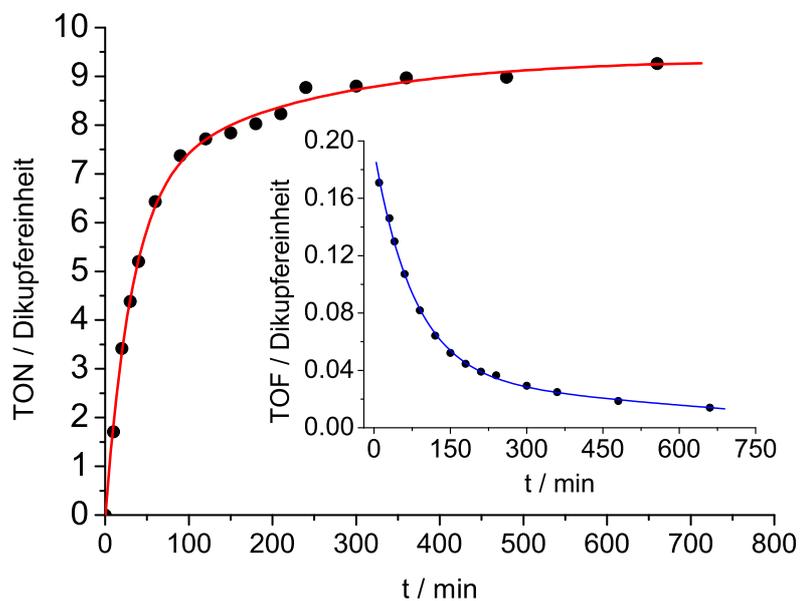


Abbildung 10.6: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 3,5-DTBQ pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Die NMR-spektroskopische Untersuchung bestätigt diese Beobachtungen und liefert, analog zu Abbildung 10.7 und dessen Auswertung, die gleichen Oxygenierungsprodukte.

Das prozentuale Verhältnis von 3,5-DTBQ, 3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol und 2,4-DTBP-H beträgt 5 : 42 : 53.

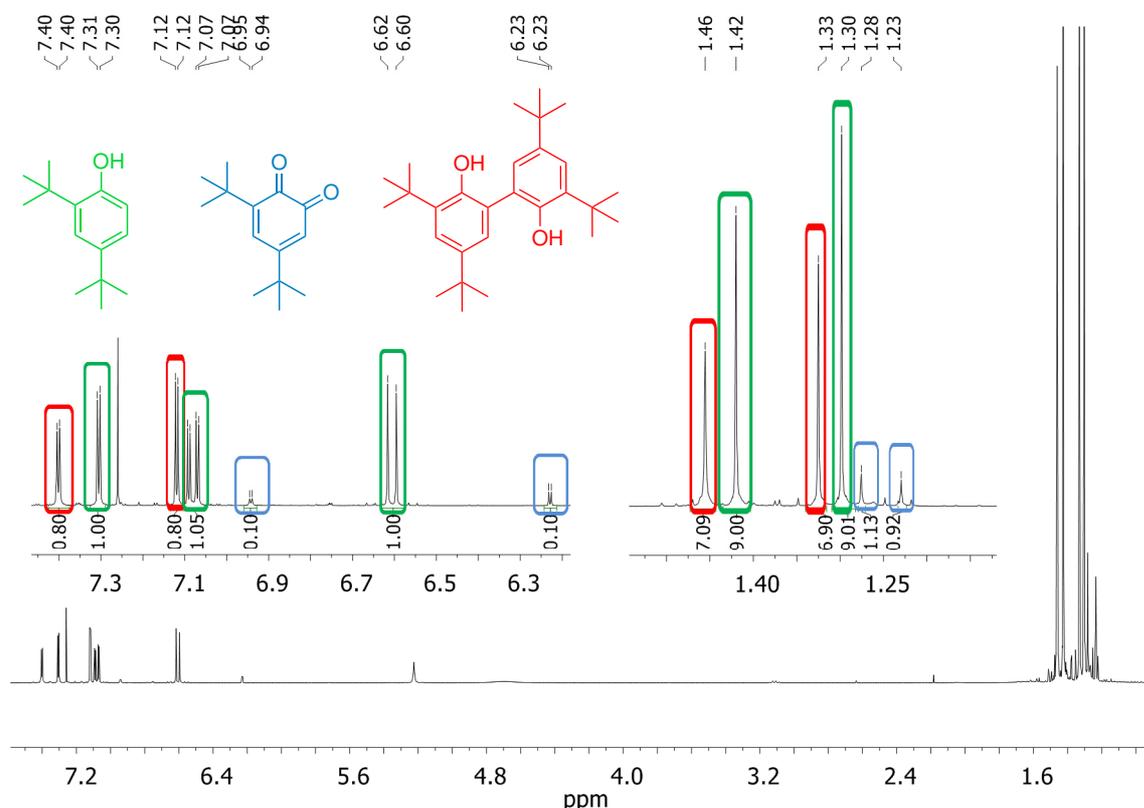


Abbildung 10.7: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach Oxygenierung von 2,4-DTBP-H mittels CuBIMZ für 6 h in Anwesenheit von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin (aufgenommen in CDCl_3).

Als weitere Modellsysteme der Tyrosinase wurden die Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Komplexe CuLoL1-3 untersucht, da man sich eine Steigerung der katalytischen Effizienz aufgrund der Hydrolysestabilität dieser Systeme erhofft. Die Oxygenierung von 2,4-DTBP-H mittels CuLoL1 weist innerhalb der ersten 60 min einen Anstieg der Absorptionsbande bei ca. 405 nm auf (Abbildung 10.8, links), was auf die Bildung von 3,5-DTBQ schließen lässt. Weiteres Einleiten von molekularem Sauerstoff führte unerwarteterweise zu keinem weiteren Anstieg dieser Absorptionsbande. Eine erneute Messung nach 28 h ergab eine neue intensive Absorptionsbande bei 418 nm und eine schwache bei 523 nm (Abbildung 10.8, rechts). Die Berechnung der *turnover number* nach 60 min beträgt 1.4. Damit ergibt sich durch den Einsatz von CuLoL1 ausschließlich eine stöchiometrische Umsetzung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ.

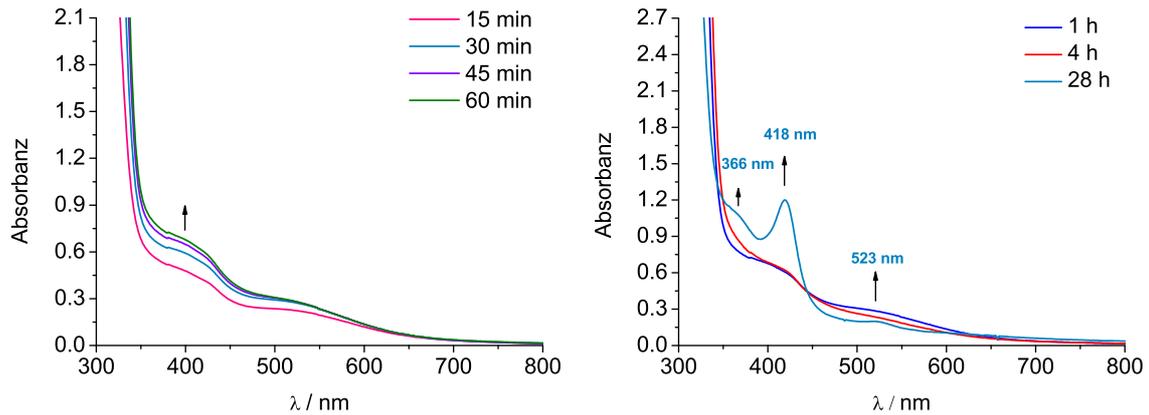


Abbildung 10.8: UV/Vis-Absorptionsspektren der Oxygenierung von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLoL1 (500 μM) (Schichtdicke: $l = 1$ cm, Dichlormethan). Links: Oxygenierung innerhalb der ersten 60 min. Rechts: Oxygenierung nach 1 h, 4 h und 28 h.

Aufgrund der geringen Chinonkonzentration konnte 3,5-DTBQ UV/Vis-spektroskopisch nicht nachgewiesen werden. Die NMR-spektroskopische Untersuchung wies ausschließlich das Vorhandensein von ca. 4 % 2,4-DTBP-H und 96 % 3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol auf.

In Analogie zu dem Modellsystem CuLoL1 wurde die Oxygenierung in Anwesenheit von CuLoL2 durchgeführt (Abbildung 10.9).

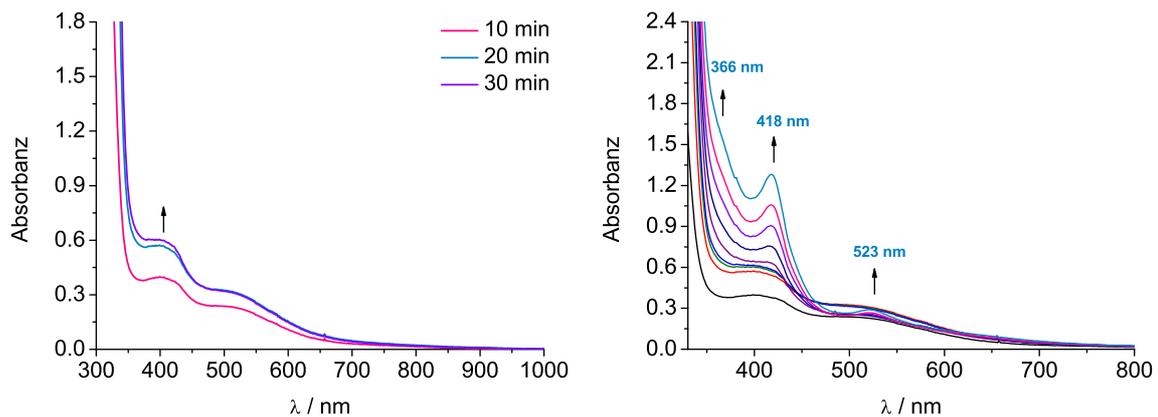


Abbildung 10.9: UV/Vis-Absorptionsspektren der Oxygenierung von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLoL2 (500 μM) (Schichtdicke: $l = 1$ cm, Dichlormethan). Links: Oxygenierung innerhalb der ersten 30 min. Rechts: Oxygenierung für 6 h.

Auch für dieses Modellsystem wurde eine schnelle Sättigung nach nur 30 min mit einer berechneten *turnover number* von 1.3 beobachtet. Damit konnte gezeigt werden, dass auch der Kupfer(I)-Komplex mit dem Liganden **Lol2** keine katalytische, sondern nur eine stöchiometrische Umsetzung des Substrates aufweist. Die Ausbildung der Absorptionsbande bei 418 nm und 523 nm wurde in diesem Fall direkt nach Sättigungseintritt von 3,5-DTBQ beobachtet. Die NMR-spektroskopische Auswertung ergab ein ähnliches Verhältnis von 5 % 2,4-DTBP-H und 95 % 3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol.

Nachdem sowohl **CuLol1** als auch **CuLol2** keine katalytische Bildung von 3,5-DTBQ aufwiesen, wurde **CuLol3** entwickelt. Die zentrale Fragestellung nach den Beobachtungen der Katalyse von **CuLol1** und **CuLol2** war, ob eine mögliche Bindung an das aktive Zentrum des $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Komplexes}$ durch die Substituenten der Oxazolin-Einheit verhindert wird. Sowohl die Phenylgruppe als auch die *tert*-Butyl-Einheit können in das aktive binukleare Kupfer(II)-Zentrum ragen und dieses möglicherweise für einen Angriff des Monophenols abschirmen. Das verwendete 2,4-DTBP-H weist zwei *tert*-Butylgruppen auf, die zum einen zwar das zu bildende *ortho*-Chinon stabilisieren, zum anderen jedoch auch möglicherweise mit dem Ligandengerüst wechselwirken und somit eine Bindung an das Kupfer(II)-Zentrum verhindern. Folglich soll der Austausch der sterisch anspruchsvollen Substituenten in dem Oxazolin-basierten Ligandengerüst gegen eine Methyl-Einheit die Wechselwirkungen zwischen Ligand und Monophenol minimieren und somit einen Angriff von 2,4-DTBP-H ermöglichen.

Eine Oxygenierung von 2,4-DTBP-H in Anwesenheit von **CuLol3** führte allerdings auch nach Reduzierung der abschirmenden Substituenten zu keiner Steigerung der Umsatzrate (Abbildung 10.10). Die ermittelte *turnover number* von 1.6 in Anwesenheit von **CuLol3** als Katalysator lässt ebenfalls auf eine stöchiometrische Umsetzung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ schließen. Die Ausbildung der Absorptionsbande bei 418 nm und 523 nm wurde auch in diesem Fall beobachtet. Die NMR-spektroskopische Untersuchung ergab eine prozentuale Verteilung von 2,4-DTBP-H und 3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol von 23 : 77.

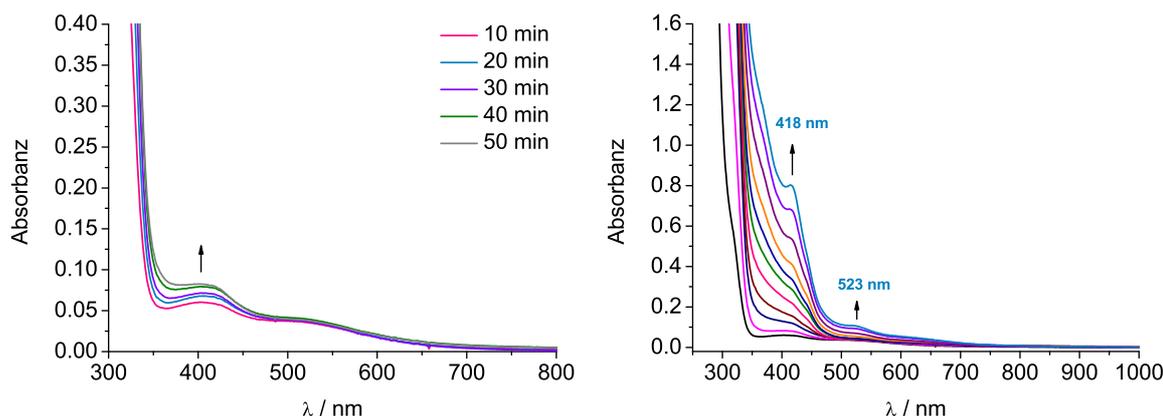


Abbildung 10.10: UV/Vis-Absorptionsspektren der Oxygenierung von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLot₂ (500 µM) (Schichtdicke: $l = 1$ cm, Dichlormethan). Links: Oxygenierung innerhalb der ersten 30 min. Rechts: Oxygenierung innerhalb von 7 h.

Daraus folgt, dass alle Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Modellsysteme ausschließlich eine stöchiometrische Umsetzung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ zeigen. Dieser Tatbestand ist jedoch nicht begründet durch die Substituenten in Nachbarschaft zur Oxazolin-Einheit, da der Austausch der sterisch anspruchsvollen Substituenten (Phenyl und *tert*-Butyl) gegen eine Methyl-Einheit zu keiner Steigerung der Umsatzrate führte. Mögliche Ursachen für die Unterschiede in der Tyrosinase-Aktivität werden in den folgenden Kapiteln diskutiert.

Aufgrund des Sachverhalts, dass im Anschluss an die stöchiometrische Bildung von 3,5-DTBQ eine intensive Absorptionsbande bei 418 nm resultiert, wurden Untersuchungen durchgeführt, die der Identifizierung der dazugehörigen Substanz dienten, um eine mögliche Ursache der fehlenden katalytischen Aktivität dieser Komplexe zu ermitteln bzw. auszuschließen. Hierfür wurde das detektierte Produkt bei 418 nm mit den gängigsten literaturbekannten Oxygenierungsprodukten verglichen (Abbildung 10.11).^[235, 236] Die Voraussetzung für dieses Bestreben war die Isolierung dieser unbekanntes Spezies. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit Dichlormethan, welches auch bei den Oxygenierungs-Reaktionen verwendet wurde, um Folgereaktionen aufgrund des Lösungsmittels zu vermeiden. Die Isolierung gestaltete sich schwierig, da die gesuchte Substanz eine hohe Polarität aufwies und sich mit einem R_f -Wert von 0.01 nur sehr langsam von der stationären Phase eluieren ließ. Es wurden 2 mg eines roten Öls erhalten. Der R_f -Wert von 0.34 für 3,5-DTBQ und der R_f -Wert von 0.56 für das C-C-Kupplungsprodukt unterscheiden sich signifikant von dem der gesuchten Substanz, so dass nicht davon

ausgegangen wird, dass diese ein Reaktionsprodukt darstellt, welches ausschließlich auf der Basis von 2,4-DTBP-H gebildet wurde.

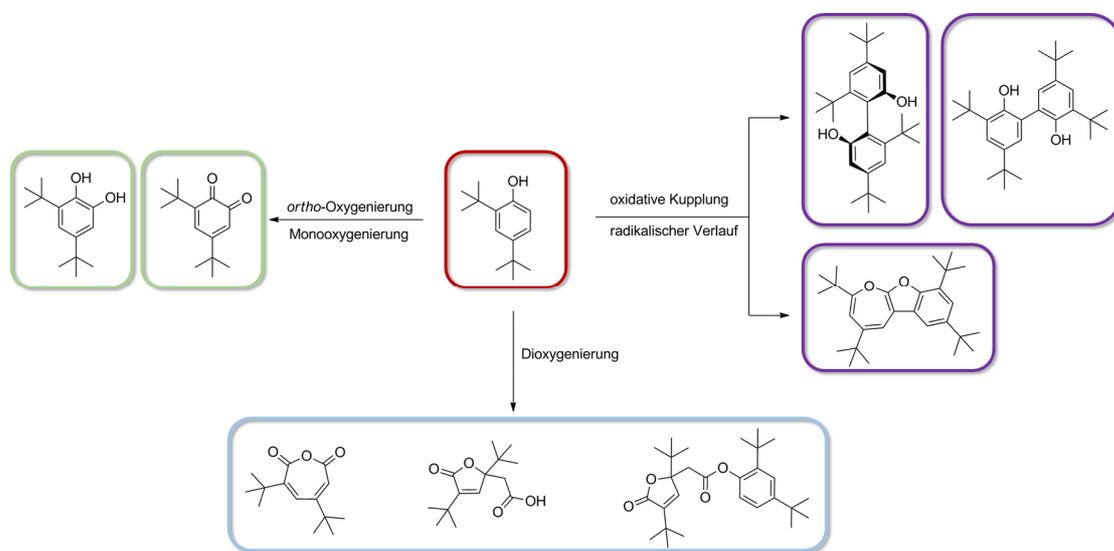


Abbildung 10.11: Übersichtliche Darstellung der gängigsten Oxygenierungsprodukte ausgehend von 2,4-DTBP-H.^[235, 236]

Die NMR-spektroskopische Untersuchung zeigte trotz säulenchromatographischer Aufreinigung kein sauberes Spektrum, so dass ein Strukturvorschlag nicht möglich war. Dennoch konnte die Ausbildung einer der in Abbildung 10.11 dargestellten Produkte anhand der NMR-Spektren ausgeschlossen werden. Erneute Aufreinigungsversuche mit polarerer Lösungsmittelgemischen (DCM/MeOH bzw. DCM/EE) waren nicht erfolgreich, da die Variation des Laufmittels zu einer Reaktion mit Hitzeentwicklung auf der Säule führte. Hierbei entfärbte sich das rote Öl auf der stationären Phase. Die Anwesenheit von Kupfer in der Substanz wurde mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) und Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) ausgeschlossen. Massenspektrometrische Untersuchungen (ESI-MS und Maldi-TOF) konnten ebenfalls keine weiteren Hinweise auf die Zusammensetzung liefern. Nachdem aufgrund der hohen Polarität weitestgehend ausgeschlossen werden konnte, dass sich das Produkt bei 418 nm um ein Folgeprodukt des 2,4-DTBP-H bzw. 3,5-DTBQ handelt, wie es Abbildung 10.11 zeigt und es somit nicht direkt mit der Tyrosinase-Reaktion in Verbindung gebracht werden konnte, wurden keine weiteren Untersuchungen unternommen.

10.1.2 Katalytische Oxygenierung weiterer Substrate

Vor dem Hintergrund, dass die hydrolysestabilen Oxazolin-basierten Modellsysteme ausschließlich einen stöchiometrischen Umsatz aufweisen, wurde der Einfluss weiterer externer Substrate mit den Kupfer(I)-Komplexen der Liganden **Limz1** und **BIMZ** durchgeführt. Neben dem Einfluss des Ligandensystems, ist die Katalyse ebenfalls in großem Maße von den elektronischen Eigenschaften und der Konstitution des zu oxygenierenden externen Substrates abhängig. Abbildung 10.12 zeigt die im Folgenden untersuchten Substrate 3-*tert*-Butylphenol (3-TBP-H), 4-Methoxyphenol (4-MeOP-H), *N*-Acetyl-L-tyrosinethylester-monohydrat (NATEE) und 8-Hydroxychinolin.

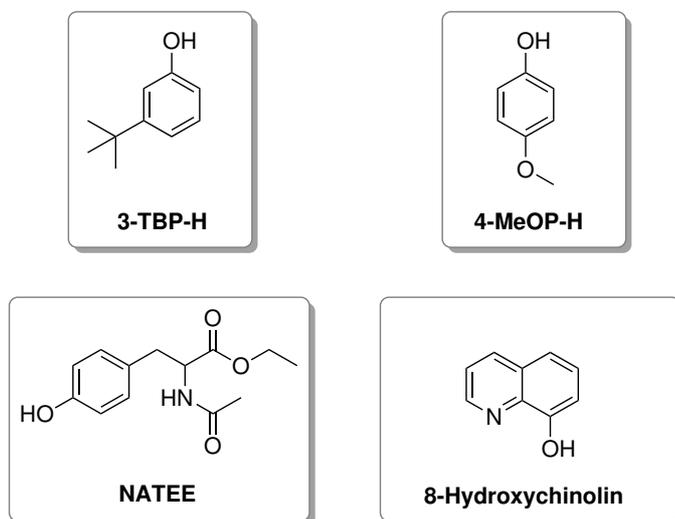


Abbildung 10.12: Schematische Darstellung der untersuchten Substrate.

10.1.2.1 Katalytische Oxygenierung von 3-*tert*-Butylphenol

Neben dem in der Literatur etablierten 2,4-DTBP-H, wurde als nächstes der Einfluss eines geringer substituierten Substrates untersucht. Hierfür wurde das 2,4-DTBP-H durch 3-*tert*-Butylphenol (3-TBP-H) ersetzt, wodurch sowohl der elektronische Einfluss als auch der sterische Aspekt des Substrates variiert wurde. Der positive induktive Effekt der *tert*-Butyl-Einheit wurde durch die Eliminierung einer *tert*-Butylgruppe herabgesetzt ebenso wie die Wechselwirkungen zwischen dem Ligandengerüst und dem Substrat.

Die erste Oxygenierungs-Reaktion wurde unter Verwendung des Katalysators Cu**Limz1** durchgeführt. Eine Messung nach 15 min (Abbildung 10.13, schwarzes Spektrum) zeigte

die Ausbildung einer Absorptionsbande bei 400 nm, welche dem 4-*tert*-Butylchinon (4-TBQ) zugeordnet wurde und bei den anschließenden Messungen nach 30 min bzw. 45 min (Abbildung 10.13, rotes und blaues Spektrum) weiter an Intensität zunahm. Weiteres Einleiten von molekularem Sauerstoff führte jedoch zu einer Verschiebung der Bande mit einem neuen Maximum bei 425 nm, was eine Folgereaktion des gebildeten *ortho*-Chinons impliziert. Die Reaktion war nach 4 h beendet und wurde auch in diesem Fall durch die Ausbildung einer breiten Bande bei 600 nm begleitet (Abbildung 10.13, Einschub).

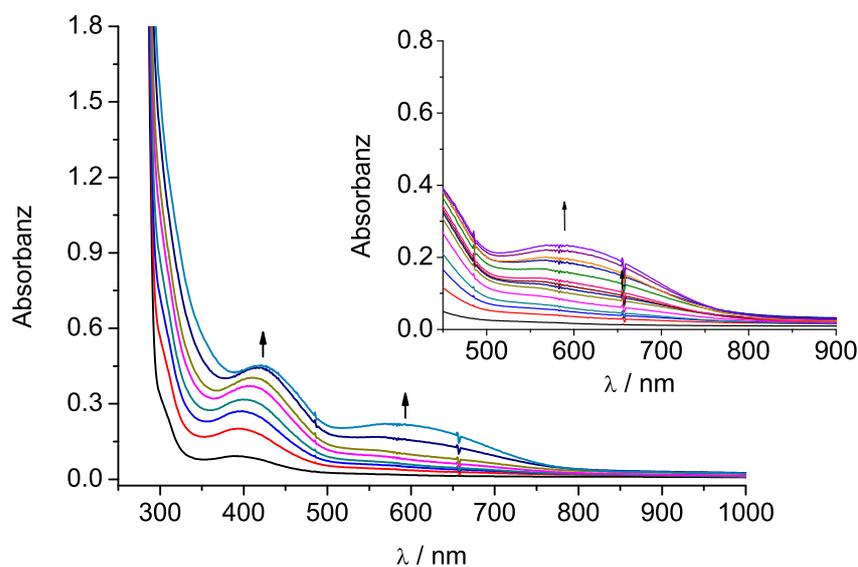


Abbildung 10.13: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 3-TBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLimz1 (500 μM) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 15 min detektiert, das letzte nach 7 h. Einschub: Ausbildung einer breiten Bande bei 600 nm. Das erste Spektrum wurde nach 15 min detektiert, das letzte nach 8 h.

Das nach dem HCl-Quench erhaltene NMR-Spektrum wies kein 4-TBQ auf, was anhand der Verschiebung der Absorptionsbande zu erwarten war (Abbildung 10.14).

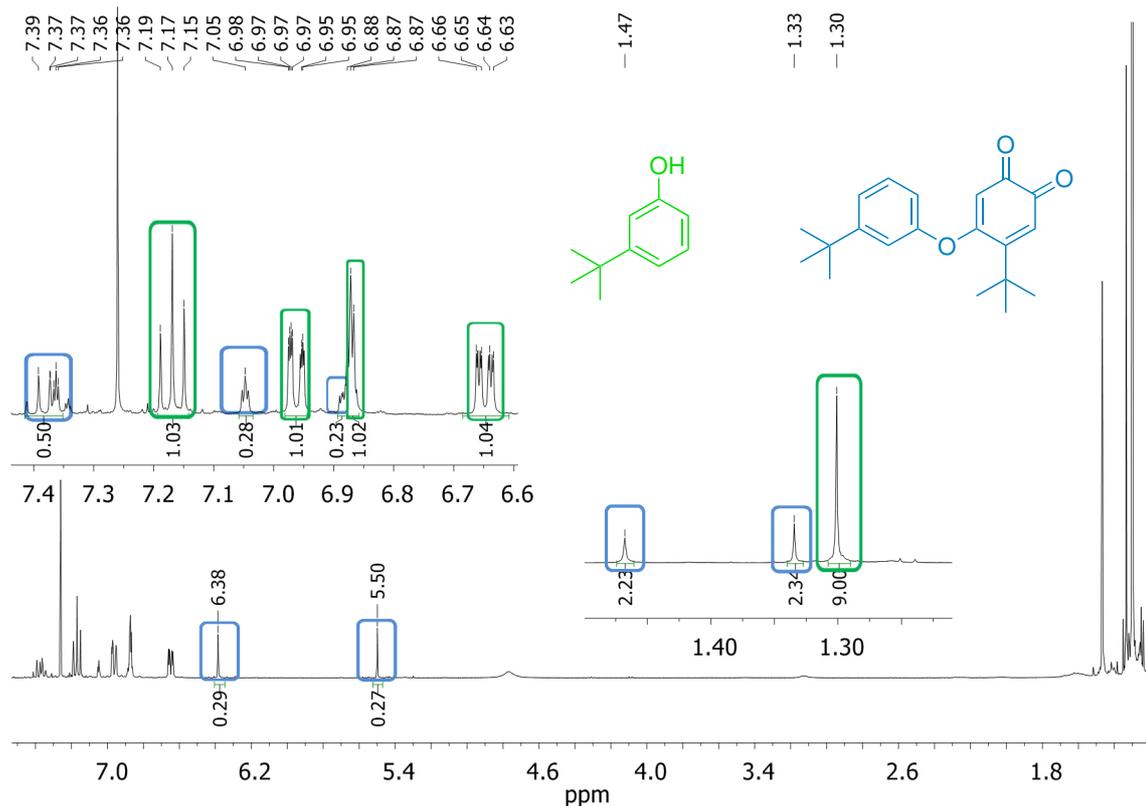


Abbildung 10.14: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach Oxygenierung von 3-TBP-H mittels $\text{CuL}_{\text{imz}}\mathbf{1}$ für 4 h in Anwesenheit von 50 Äq. 3-TBP-H und 100 Äq. Triethylamin (aufgenommen in CDCl_3).

Es zeigte sich, dass das gebildete *ortho*-Chinon, welches nur zu Beginn der Reaktion im UV/Vis-Spektrum beobachtet werden konnte, mit dem eingesetzten Monophenol zum 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion reagierte (Abbildung 10.15). Folglich konnte gezeigt werden, dass die Eliminierung einer *tert*-Butylgruppe des eingesetzten Monophenols einen elektrophilen Angriff in 5-Position des gebildeten 4-TBQ ermöglicht.

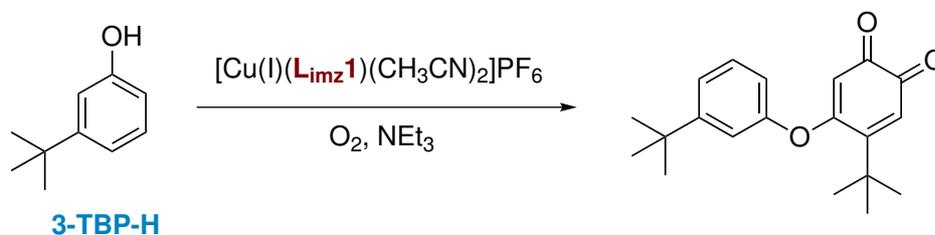


Abbildung 10.15: Reaktion von 3-TBP-H zu 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion, katalysiert durch $\text{CuL}_{\text{imz}}\mathbf{1}$.

Die detaillierte Zuordnung der einzelnen Komponenten in den erhaltenen $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren wurde wie folgt getroffen:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K)

4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion: $\delta = 7.40\text{-}7.35$ (m, 2H, H-4', H-5'), 7.05 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H, H-2'), 6.90- 6.88 (m, 1H, H-6'), 6.38 (s, 1H, H-3), 5.50 (s, 1H, H-6), 1.47 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$), 1.33 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$) ppm.

3-TBP-H: $\delta = 7.16$ (td, $J = 8.0, 3.7$ Hz, 1H, H-5), 6.96 (ddd, $J = 7.8, 1.8, 0.9$ Hz, 1H, H-4), 6.88-6.86 (m, 1H, H-2), 6.65 (ddd, $J = 8.0, 2.5, 0.9$ Hz, 1H, H-6), 1.30 (s, 9H, $-(\text{CH}_3)_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K)

4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion: $\delta = 181.6$ (C, 1C, C-2), 179.1 (C, 1C, C-1), 171.1 (C, 1C, C-1'), 158.8 (C, 1C, C-5), 154.8 (C, 1C, C-3'), 152.0 (CH, 1C, C-4), 130.2 (CH, 1C, C-5'), 126.3 (CH, 1C, C-4'), 124.2 (CH, 1C, C-3), 117.9 (CH, 2C, C-2', C-6'), 107.9 (CH, 1C, C-6), 36.7 (C, 1C, C-3'- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 34.8 (C, 1C, C-4- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.4 (CH₃, 3C, C-3'- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.8 (CH₃, 3C, C-4- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

3-TBP-H: $\delta = 155.4$ (C, 1C, C-1), 153.5 (C, 1C, C-3), 129.3 (CH, 1C, C-5), 118.0 (CH, 1C, C-4), 112.7 (CH, 1C, C-6), 112.4 (CH, 1C, C-2), 35.1 (C, 1C, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.4 (CH₃, 3C, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

Interessant in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, dass kein C-C-Kupplungsprodukt nachgewiesen werden konnte. Wie oben erwähnt, basiert die Bildung des C-C-Kupplungsproduktes auf einem radikalischen Mechanismus.^[237] Es ist bekannt, dass Substituenten mit +I-Effekt Radikale stabilisieren. Demnach resultiert aufgrund der zwei *tert*-Butyl-Substituenten des 2,4-DTBP-H eine Stabilisierung des entsprechenden Radikals in dem Maße, dass das Biphenol (3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyl-2,2'-biphenol) in hohen Ausbeuten entstehen kann. Dass im Fall von 3-TBP-H kein C-C-Kupplungsprodukt entstanden ist, ist wahrscheinlich durch eine geringere Stabilität des Radikals aufgrund von nur einer *tert*-Butyl-Einheit begründet.

Die Bestimmung der Ausbeute sollte ebenfalls über das *Lambert Beer'sche* Gesetz anhand der UV/Vis-Spektren erfolgen, wofür zunächst der Extinktionskoeffizient bestimmt werden musste, da bis zum jetzigen Zeitpunkt in der Literatur keiner bekannt ist. Die Isolierung des reinen 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dions gestaltete sich schwierig. Die Synthese des gekoppelten *ortho*-Chinons erfolgte auf dem oben beschriebenen Weg. Demnach wurde immer ein Gemisch aus Edukt und Produkt erhalten. Die säulenchromatographische Isolierung des gekoppelten *ortho*-Chinons konnte nicht mit einer zufriedenstellenden Reinheit durchgeführt werden, was vor allem an den geringen Ausbeuten von ca. 20 mg lag. Die Verwendung des chromatographischen Trennsystems Isolera™ ermöglichte die Isolierung von 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion als reine Substanz. Für die Oxygenierung wurde der dreifache Ansatz gewählt (1.5 mM CuLimz1, 50 Äq. 3-TBP-H, 100 Äq. Triethylamin), damit eine ausreichende Ausbeute für die säulenchromatographische Trennung vorhanden war. In die Reaktionslösung wurde für 1.5 h molekularer Sauerstoff eingeleitet, anschließend mit 50 mL Dichlormethan versetzt und mit 30 mL einer 6 M HCl-Lösung extrahiert. Die wässrige Phase wurde daraufhin dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten org. Phasen i. Vak. vom dem Lösungsmittel befreit. Der rote, ölige Rückstand wurde mit einem Gemisch aus Cyclohexan : Ethylacetat (8 : 2) an Kieselgel gereinigt. Die Fraktionen mit einem R_f-Wert von 0.38, die einem Gemisch aus Edukt und dem gekoppelten *ortho*-Chinon entsprachen, wurden mit Hilfe des chromatographischen Trennsystems Isolera™ weiter aufgetrennt. Hierfür wurde Dichlormethan als mobile Phase gewählt. Für die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten wurden drei unterschiedliche Konzentrationen von $1.47 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $1.79 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ und $1.92 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ des 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dions in Dichlormethan hergestellt und UV/Vis-spektroskopisch vermessen (Abbildung 10.16). Die berechneten Extinktionskoeffizienten von $\epsilon = 862.64 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon = 940.42 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und $\epsilon = 890.81 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ wurden gemittelt und ein Extinktionskoeffizient von $\epsilon = 897.86 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ für das Absorptionsmaximum bei 425 nm für 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion erhalten. Zusammenfassend für die katalytische Tyrosinase-Aktivität von CuLimz1, zeigt Abbildung 10.17 die zeitabhängige Auftragung der *turnover number* und der *turnover frequency* pro Dikupfereinheit.

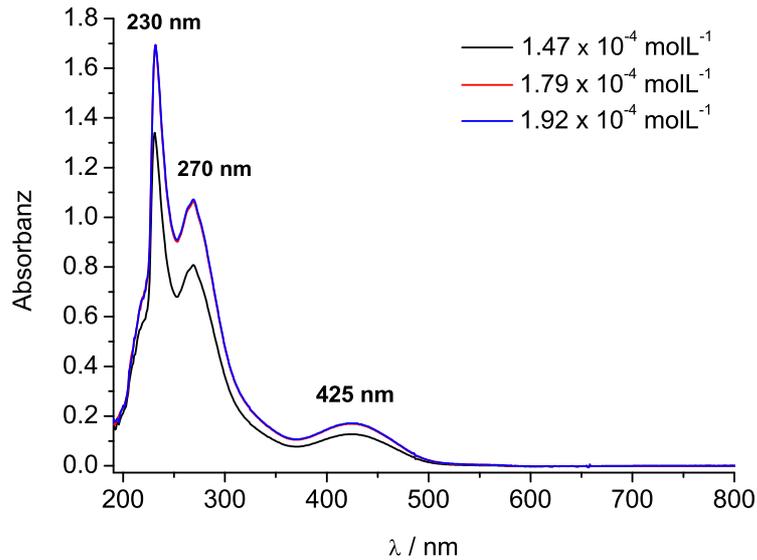


Abbildung 10.16: UV/Vis-Absorptionsspektren von 4-(*tert*-butyl)-5-(3-(*tert*-Butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion ($47 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $1,79 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ und $1,92 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$), für die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten (Schichtdicke: $l = 1 \text{ cm}$, Dichlormethan).

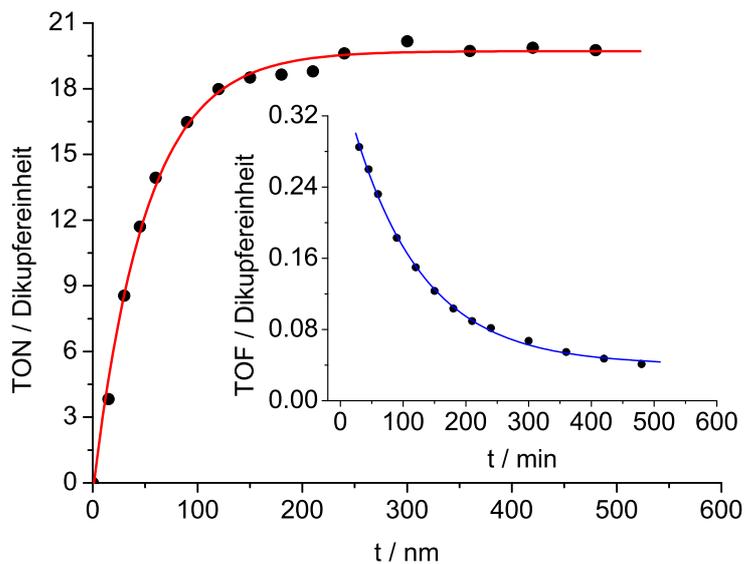


Abbildung 10.17: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 3,5-DTBQ pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Für die Bildung von 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion wurde nach 4 h eine maximale *turnover number* von 20 erhalten.

Die Durchführung der Oxygenierung von 3-TBP-H mittels CuBIMZ ergibt, analog zur diskutierten Oxygenierung mit CuL_{imz}1, eine Absorptionsbande bei 425 nm (Abbildung 10.18, Abbildung 10.19).

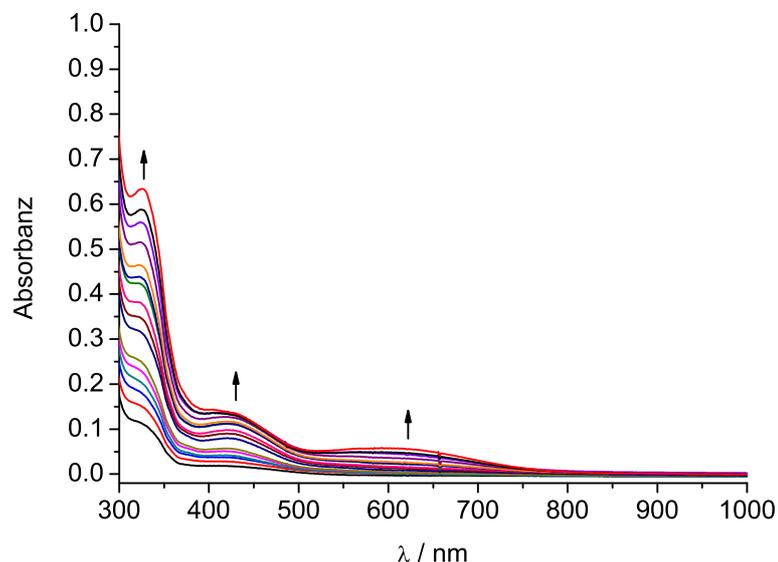


Abbildung 10.18: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 3-TBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ (500 μ M) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 10 min detektiert, das letzte nach 8 h.

Die Verschiebung der Bande ist in diesem Fall weniger ausgeprägt. Neben der Chinonbande von 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion bildete sich zeitgleich eine Schulter bei 325 nm aus. Diese Absorptionsbande wird interpretiert als Catecholatzu Kupfer Charge-Transfer Übergang von koordiniertem Catecholatzu an das Kupfer(II)-Zentrum, welches vermutlich aufgrund der geringen Reaktionsgeschwindigkeit der Katalyse im UV/Vis-Spektrum sichtbar war.^[238, 239]

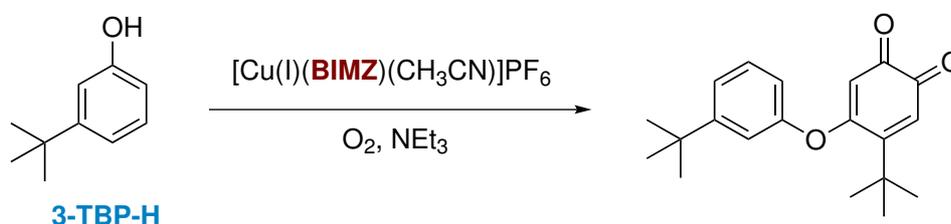


Abbildung 10.19: Reaktion von 3-TBP-H zu 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion, katalysiert durch CuBIMZ.

Die graphische Darstellung der *turnover number* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit und die *turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit ist in Abbildung 10.20 gezeigt. Die maximale *turnover number* beträgt 6 nach 5 h.

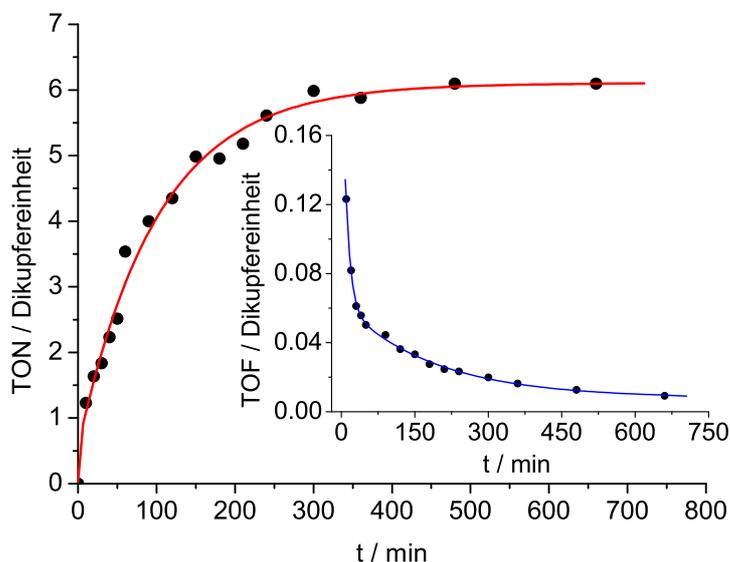


Abbildung 10.20: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 4-(*tert*-butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Die NMR-Signale des 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dions sind im Vergleich zu der Oxygenierung mittels CuLimz1 weniger intensiv. Im aromatischen Bereich ist in diesem Fall keine genaue Zuordnung der Signale mehr möglich. Das ^1H -NMR-Spektrum zeigt das Vorhandensein von Edukt und 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion (Abbildung 10.21).

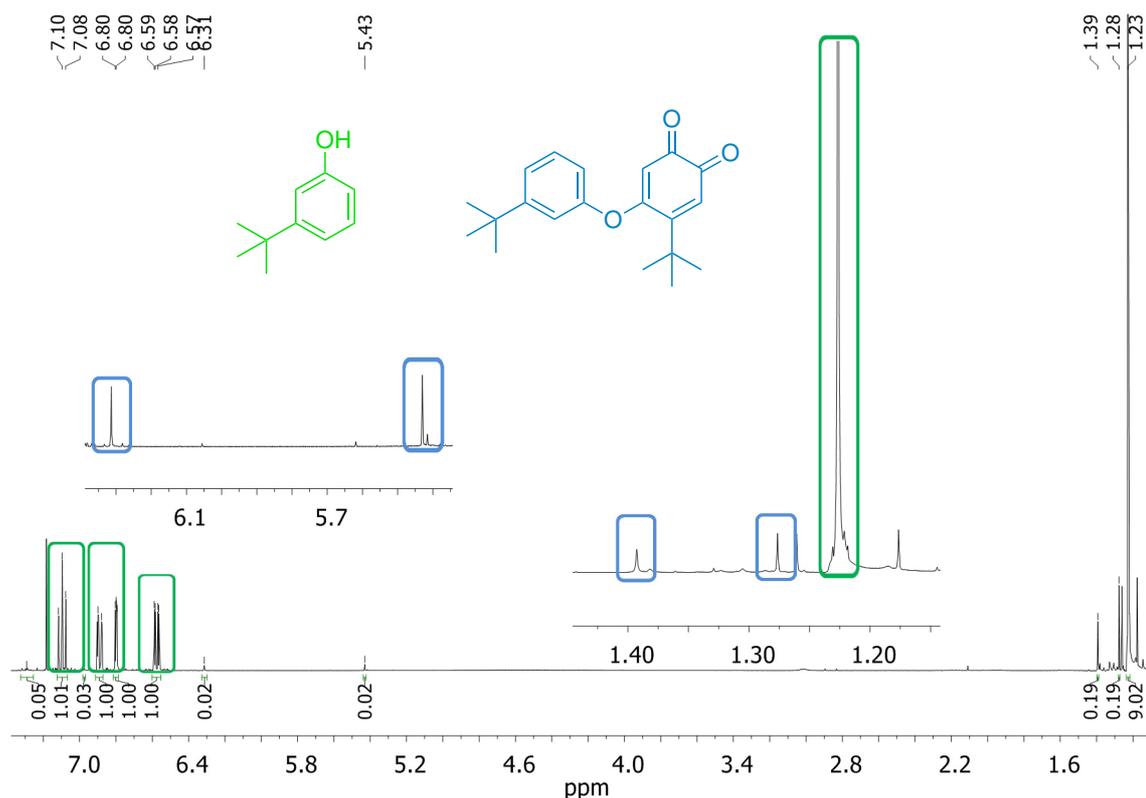


Abbildung 10.21: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach Oxygenierung von 3-TBP-H mittels CuBIMZ für 5 h in Anwesenheit von 50 Äq. 3-TBP-H und 100 Äq. Triethylamin (aufgenommen in CDCl_3).

Um zu bestätigen, dass bei der Katalyse mit CuL_{imz}1 und CuBIMZ das gleiche Produkt entstanden ist, wurden die *ortho*-Chinone durch Reaktion mit *ortho*-Phenyldiamin in das entsprechende Phenazinderivat überführt und mittels Absorptions- und Fluoreszenz-Spektroskopie untersucht (Abbildung 10.22).

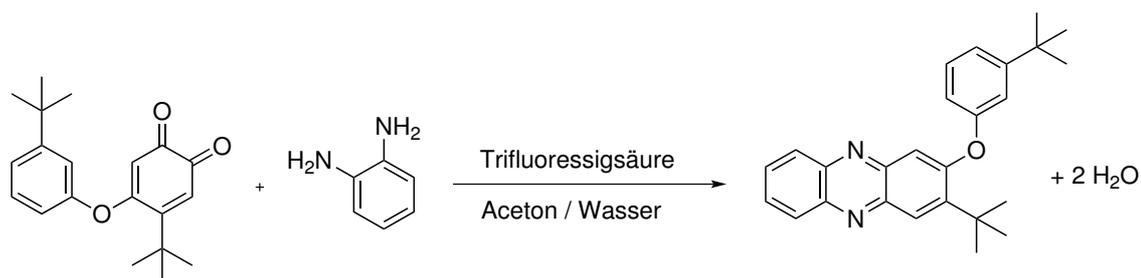


Abbildung 10.22: Reaktion von 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion mit *ortho*-Phenyldiamin zum entsprechenden Phenazinderivat.

Die Reaktionsbedingungen wurden zunächst mit CuL_{imz}1 evaluiert. In 20 mL einer 500 μM Oxygenierungs-Lösung wurde für 3.5 h molekularer Sauerstoff eingeleitet und ein UV/Vis-

Spektrum in Dichlormethan aufgenommen (Abbildung 10.23, links), welches wie erwartet eine Absorptionsbande bei 425 nm aufweist. Anschließend wurden 10 mL der Reaktionslösung entnommen und i. Vak. das Lösungsmittel entfernt. Der rote, ölige Rückstand wurde mit einem Gemisch aus Aceton und Wasser (25 : 20) versetzt und 13.5 mg festes *ortho*-Phenylendiamin hinzugegeben. Die Lösung färbte sich schlagartig blau/türkis. Durch anschließendes Zufügen von 20 mL einer 1 %-igen wässrigen Trifluoressigsäure-Lösung, fand ein erneuter Farbumschlag nach leuchtend gelb statt. Das Reaktionsgemisch wurde für 15 min unter Rückfluss erhitzt und UV/Vis-spektroskopisch vermessen. Die Lage des Maximums hat sich zu höherer Energie verschoben (377 nm), was auf die Umsetzung zum Phenazinderivat schließen lässt.

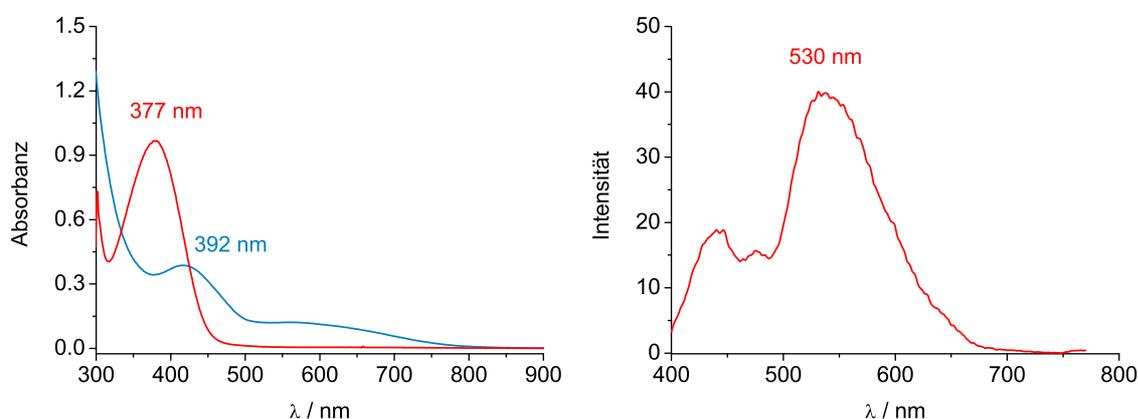


Abbildung 10.23: Links: UV/Vis-Absorptionsspektren nach Oxygenierung von 50 Äq. 3-TBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLimz1 (500 μ M). Die Spektren wurden aufgenommen nach Einleiten von O₂ für 3.5 h (blau) und nach Derivatisierung mit *ortho*-Phenylendiamin in einem Aceton/Wasser Gemisch (25 : 20) (rot) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Rechts: Fluoreszenzspektrum des Phenazinderivates in Methanol. Die Anregungswellenlänge betrug $\lambda_{\text{ex}} = 380$ nm.

Das gebildete Phenazinderivat wurde i. Vak vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in Methanol aufgenommen, da eine Messung in Aceton/Wasser keine aussagekräftigen Fluoreszenzspektren lieferte. Die methanolische Lösung wurde mit einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{\text{ex}} = 380$ nm vermessen und ein Fluoreszenzspektrum erhalten, dessen maximale Intensität bei 530 nm liegt (Abbildung 10.23, rechts). Dieses stimmt gut mit ähnlichen literaturbekannten Phenazinderivaten überein, die sich in dem Bereich von 390 - 545 nm befinden.^[240, 241]

Die erhaltenen Spektren wurden anschließend mit dem Phenazinderivat des Oxygenierungsproduktes verglichen, welches bei der Oxygenierung von 3-TBP-H für 3.5 h mit CuBIMZ entstanden ist (Abbildung 10.24, links). Die Derivatisierung mit *ortho*-Phenylendiamin zeigt ebenfalls eine maximale Absorptionsbande bei 377 nm. Das Fluoreszenzspektrum hat seine maximale Intensität bei 530 nm (Abbildung 10.24, rechts). Dieses impliziert, neben dem NMR-Spektrum, dass sowohl bei der Oxygenierungsreaktion mit CuLimz1 als auch mit CuBIMZ 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion als Produkt entstanden ist.

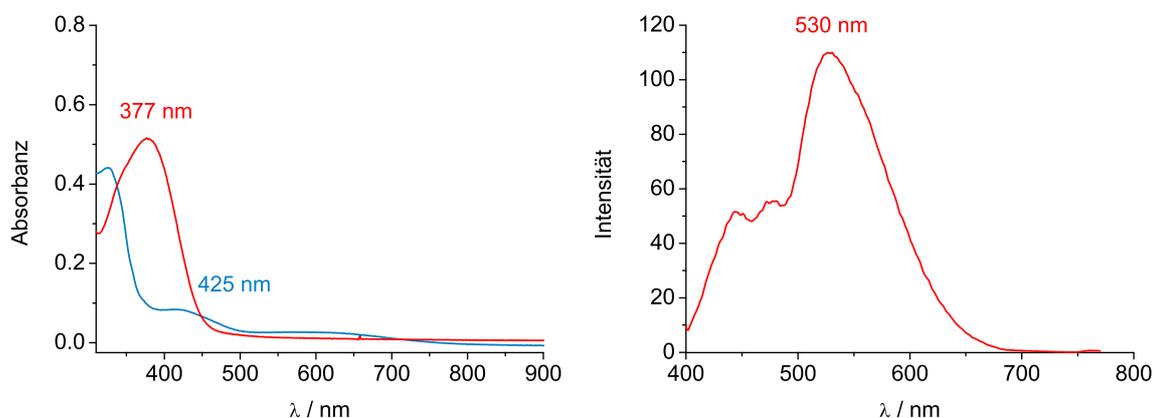


Abbildung 10.24: Links: UV/Vis-Absorptionsspektren nach Oxygenierung von 50 Äq. 3-TBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ (500 μ M). Die Spektren wurden aufgenommen nach Einleiten von O₂ für 3.5 h (blau) und nach Derivatisierung mit *ortho*-Phenylendiamin in einem Aceton/Wasser Gemisch (25 : 20) (rot) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Rechts: Fluoreszenzspektrum des Phenazinderivates in Methanol. Die Anregungswellenlänge betrug $\lambda_{\text{ex}} = 380$ nm.

Es fällt auf, dass beide Fluoreszenzspektren eine weitere, weniger intensive Bande bei ca. 450 nm aufweisen. Um zu überprüfen, ob die weniger intensive Bande von dem unsubstituierten *ortho*-Chinon (4-TBQ) stammt, wurde 4-TBQ separat synthetisiert und spektroskopisch untersucht (Abbildung 10.25).

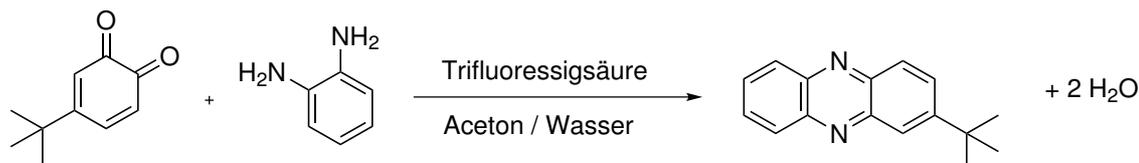


Abbildung 10.25: Reaktion von 4-TBQ mit *ortho*-Phenylendiamin zum entsprechenden Phenazinderivat.

Für die Synthese von 4-TBQ wurden 41.6 mg (250 μmol) 4-*tert*-Butylcatechol (4-TBC-H₂) und 70 μL (51.0 mg, 500 μmol , 2 Äq.) Triethylamin in 10 mL Dichlormethan gelöst und 2 h Sauerstoff eingeleitet. Die Lösung färbte sich rot. Anschließend wurde verfahren wie oben beschrieben. Die Lage des Phenazinderivates des 4-TBQ zeigt eine Absorptionsbande bei 377 nm (Abbildung 10.26, links). Das dazugehörige Fluoreszenzspektrum weist eine maximale Intensität bei 490 nm auf, welche im Vergleich zum Phenazinderivat des 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dions zu höherer Energie verschoben ist (Abbildung 10.26, rechts). Die zusätzlichen Banden der in Abbildung 10.23 und Abbildung 10.24 gezeigten Fluoreszenzmessungen stammen demnach nicht von dem Phenazinderivat des 4-TBQ.

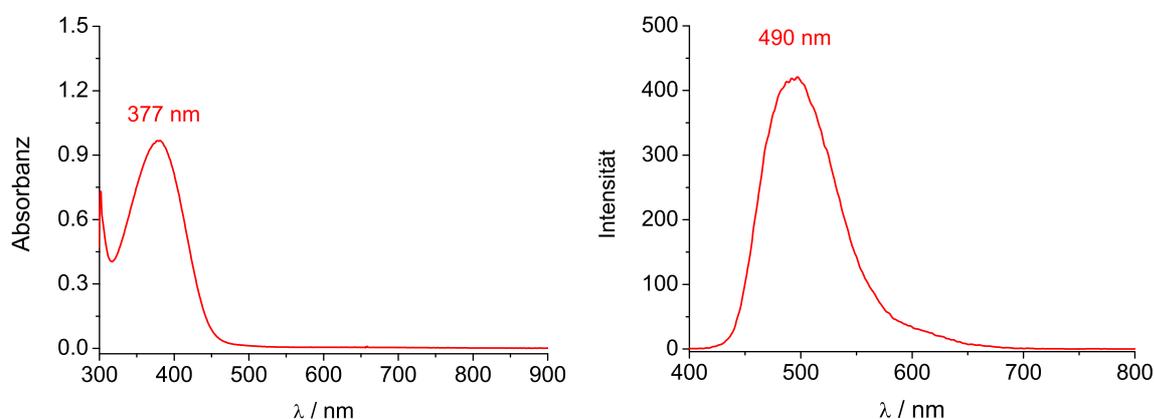


Abbildung 10.26: Links: UV/Vis-Absorptionsspektren nach Derivatisierung von 4-TBQ mit *ortho*-Phenylendiamin in einem Aceton/Wasser Gemisch (25 : 20) (rot) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Rechts: Fluoreszenzspektrum des Phenazinderivates in Methanol. Die Anregungswellenlänge betrug $\lambda_{\text{ex}} = 380$ nm.

10.1.2.2 Katalytische Oxygenierung von 4-Methoxyphenol

Durch die Verwendung von 4-Methoxyphenol (4-MeOP-H) als Substrat wurde der elektronische Einfluss weiter variiert. Das Einbringen einer Methoxygruppe in die phenolische Basisstruktur hat einen ausgeprägten positiven mesomeren Effekt zur Folge (+M-Effekt) und einen negativen induktiven Effekt (-I-Effekt). Die Oxygenierung mit CuLimz1 führte zu einer sehr schnellen Umsetzung des 4-MeOP-H. Die Absorptionsbande, die sich bei einer Wellenlänge von 418 nm ausbildete, erreichte schon nach ca. 50 min die Sättigung (Abbildung 10.27). Zu Beginn der Reaktion fand ein Farbumschlag von farblos

nach hellgelb statt, welches innerhalb der ersten 30 min intensiver wurde. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung rot.

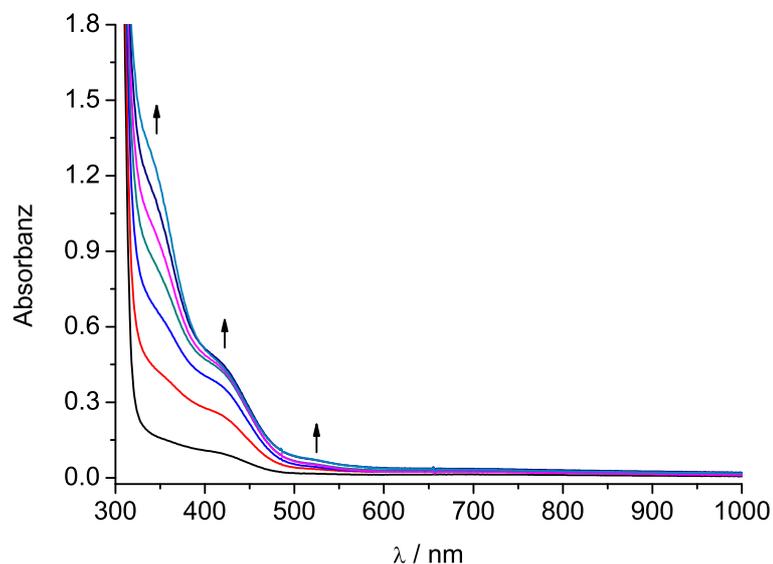


Abbildung 10.27: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuL_{imz}1 (500 μM) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 10 min detektiert, das letzte nach 1.5 h.

Nach 1 h wurde ein HCl-Quench der Reaktionslösung durchgeführt. Das resultierende ¹H-NMR-Spektrum zeigt das eingesetzte Monophenol (4-MeOP-H) und das in 5-Position substituierte *ortho*-Chinon 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion (Abbildung 10.28, Abbildung 10.29). Folglich weist der Kupfer(I)-Komplex CuL_{imz}1 die Fähigkeit auf, 4-MeOP-H katalytisch zu hydroxylieren und anschließend zu oxidieren. Aufgrund der hohen Aktivierung des Aromaten, ist eine Substitution in 5-Position jedoch auch in diesem Fall begünstigt, so dass das gekuppelte *ortho*-Chinon erhalten wurde.

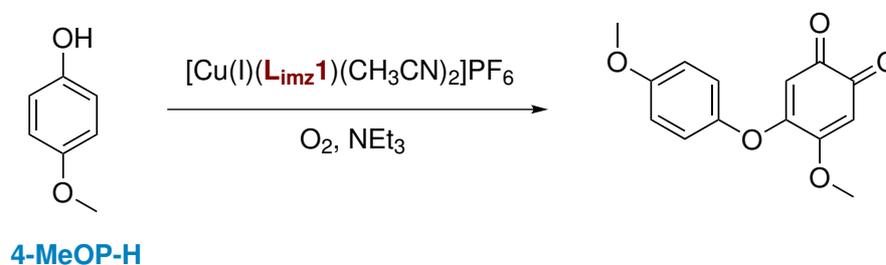


Abbildung 10.28: Reaktion von 4-MeOP-H zu 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion, katalysiert durch CuL_{imz}1.

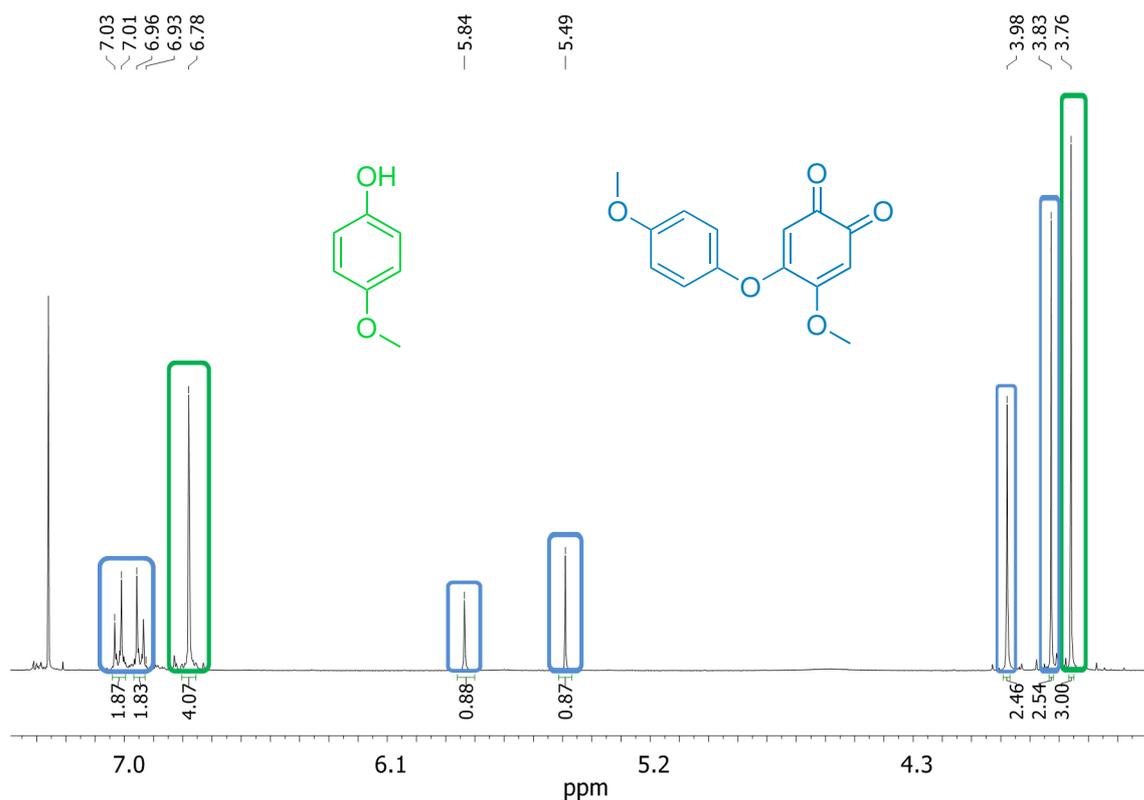


Abbildung 10.29: ¹H-NMR-Spektrum nach Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von Cu_{Limz}1 (500 μM) für 1 h (aufgenommen in CDCl₃).

Die detaillierte Zuordnung der einzelnen Komponenten in den erhaltenen ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren wurde wie folgt getroffen:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K)

4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion: δ = 7.04-6.93 (m, 4H, H-2', H-3', H-5', H-6'), 5.84 (s, 1H, H-6), 5.49 (s, 1H, H-3), 3.98 (s, 3H, -O-CH₃), 3.83 (s, 3H, -O-CH₃) ppm.

4-MeOP-H: δ = 6.78 (s, 4H, H-2, H-3, H-5, H-6), 3.76 (s, 3H, -O-CH₃), ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K)

4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion: δ = 179.2 (C, 1C, C-2), 179.0 (C, 1C, C-1), 164.4 (C, 1C, C-5), 163.8 (C, 1C, C-4'), 158.2 (C, 1C, C-4), 145.5 (C, 1C, C-1'), 121.9 (CH, 2C, C-2', C-6'), 115.5 (CH, 2C, C-3', C-5'), 106.3 (CH, 1C, C-6), 103.3 (CH, 1C, C-3), 57.4 (CH₃, 1C, C-4-O-CH₃), 55.9 (CH₃, 1C, C-4'-O-CH₃) ppm.

4-MeOP-H: $\delta = 153.9$ (C, 1C, C-4), 149.6 (C, 1C, C-1), 116.2 (CH, 2C, C-2, C-6), 114.9 (CH, 2C, C-3, C-5), 55.9 (CH₃, 1C, -O-CH₃) ppm.

Nach 3 h wurde erneut ein HCl-Quench der Lösung durchgeführt und der Rückstand NMR-spektroskopisch untersucht. Neben dem Edukt und 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion sind zwei weitere Signale bei 6.85 ppm und 3.78 ppm hinzugekommen (Abbildung 10.30). Diese wurden dem *para*-Chinon 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon zugeordnet.

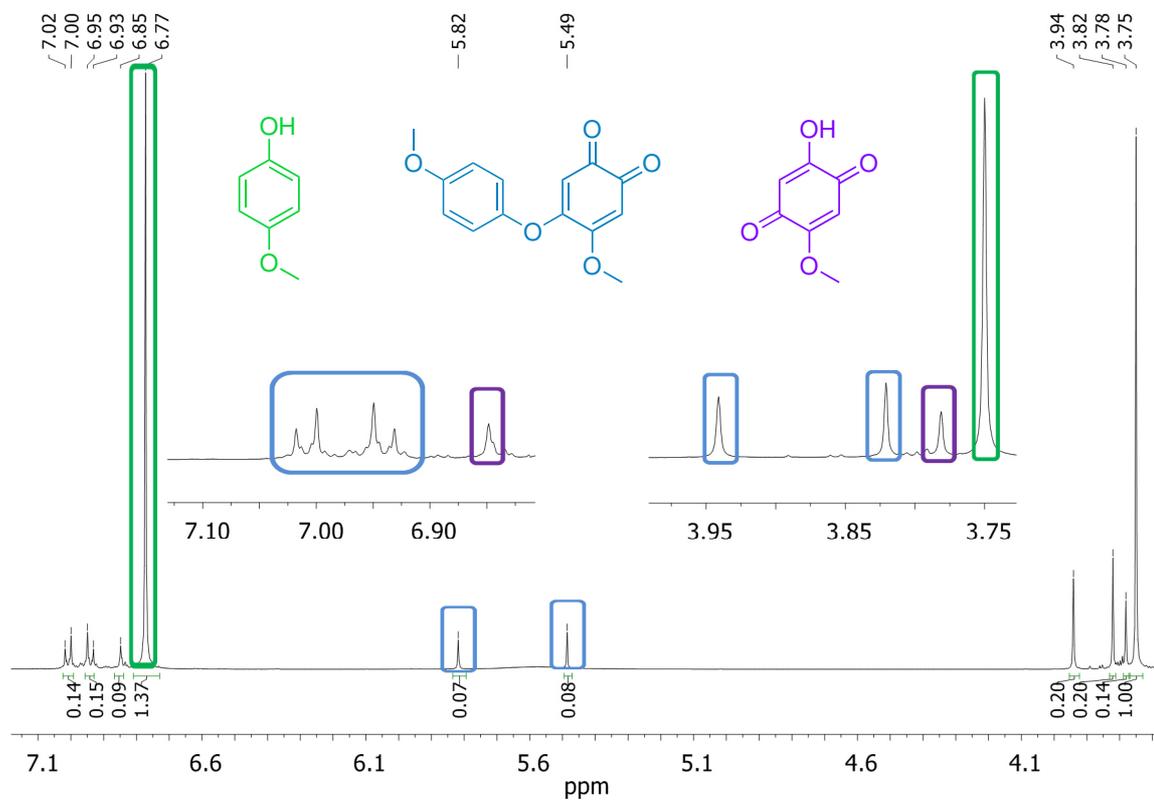


Abbildung 10.30: ¹H-NMR-Spektrum nach Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von Cu^{Linz}1 (500 μM) für 3 h (aufgenommen in CDCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K)

2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon: $\delta = 6.85$ (s, 2H, H-3, H-6), 3.78 (s, 3H, -O-CH₃) ppm.

^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K)

2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon: $\delta = 154.2$ (C, 1C, C-4), 146.8 (C, 1C, C-1), 128.0 (C, 1C, C-5), 126.1 (C, 1C, C-2), 115.3 (CH, 2C, C-3, C-6), 55.8 (CH_3 , 1C, -O- CH_3) ppm.

Angepasst an die hier herrschenden Reaktionsbedingungen, wird auf Basis von RILEY und Mitarbeitern^[242] folgender Mechanismus der Bildung von 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon postuliert.

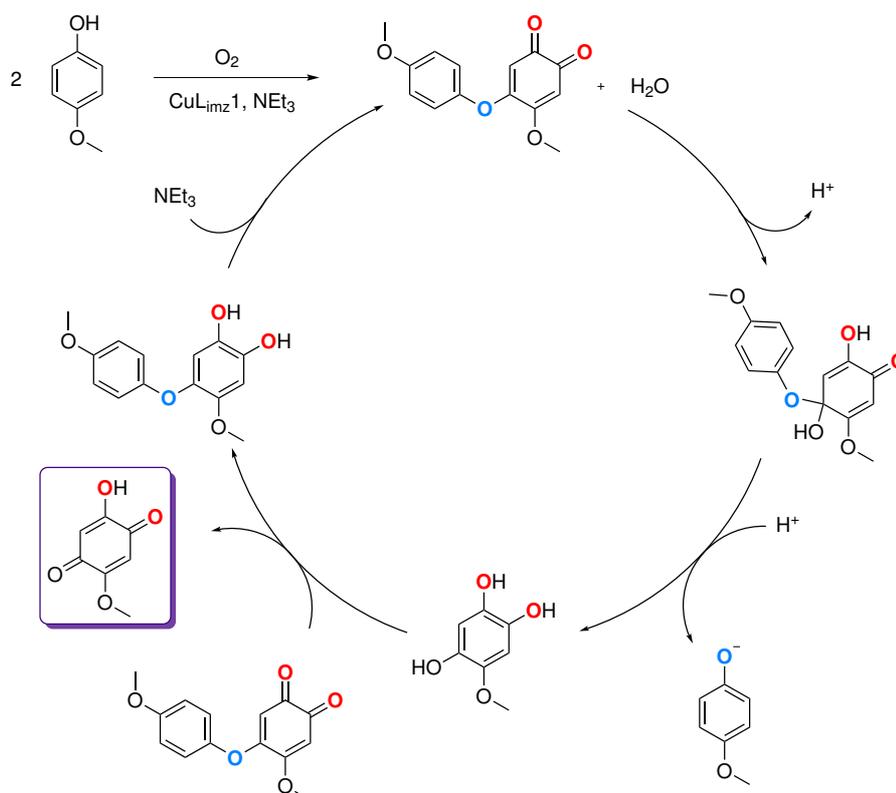


Abbildung 10.31: Postulierter Mechanismus der Bildung von 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon während der katalytischen Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Dichlormethan in Anwesenheit von CuLimz1 (500 μM).

Die Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Dichlormethan in Anwesenheit von CuLimz1 führt innerhalb der ersten 50 min zur katalytischen Bildung von 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion und Wasser. Dieses Wasser kann ab einer gewissen Konzentration nukleophil in 5-Position des Aromaten angreifen, wobei die Methoxy-Einheit für eine Resonanzstabilisierung sorgt. Im Anschluss an diesen Übergangszustand wird 4-MeOP eliminiert. Das hieraus resultierende

2,4,5-Trihydroxyanisol kann nun in Anwesenheit eines weiteren Chinonmoleküls als Reduktionsmittel fungieren, wodurch 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzoquinon und 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)benzen-1,2-diol freigesetzt werden. Durch den Überschuss von Triethylamin und Sauerstoff wird das Catecholderivat 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)benzen-1,2-diol direkt weiter zu 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzoquinon oxidiert.

Die Bestimmung der *turnover number* für die Bildung von 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion aufgrund der maximalen Absorptionsbande bei 418 nm, setzt die Kenntnis des Extinktionskoeffizienten voraus, welcher erst ermittelt werden musste. Hierfür wurde analog zu der Bestimmung des Extinktionskoeffizienten von 4-(*tert*-Butyl)-5-(3-(*tert*-butyl)phenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion verfahren. Die Darstellung von 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion erfolgte durch Oxygenierung einer 1.5 mM Lösung CuLimz1, 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Dichlormethan. Es wurde für 50 min molekularer Sauerstoff in die Reaktionslösung eingeleitet, anschließend mit 50 mL Dichlormethan versetzt und mit 25 mL einer 6 M HCl-Lösung extrahiert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch durch Einsatz des chromatographischen Trennsystems Isolera™ gereinigt. Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus Cyclohexan und Ethylacetat (1 : 1) gewählt. Das erhaltene NMR-Spektrum wies noch leichte Verunreinigungen im aliphatischen Bereich auf, woraufhin das Produkt über ein 2 cm hohes Kieselgelpad filtriert wurde (Cyclohexan : Ethylacetat; 1 : 1). Es wurde ein roter Feststoff erhalten. Für die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten wurden vier unterschiedliche Konzentrationen von 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion ($3.11 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $4.23 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $5.76 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ und $7.03 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$) in Dichlormethan hergestellt. Anhand der maximalen Absorptionsbande bei 418 nm wurden für die jeweiligen Einwaagen folgende Extinktionskoeffizienten ermittelt: $\epsilon = 532.42 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon = 474.85 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon = 556.14 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und $\epsilon = 533.29 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Die jeweiligen Extinktionskoeffizienten bei 344 nm betragen $\epsilon = 1227.09 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon = 1094.52 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon = 1286.70 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und $\epsilon = 1234.81 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Der Mittelwert ergibt einen Extinktionskoeffizienten von $\epsilon = 524.17 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ für

4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion bei einer Wellenlänge von 418 nm und $\epsilon = 1177.02 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ bei 344 nm.

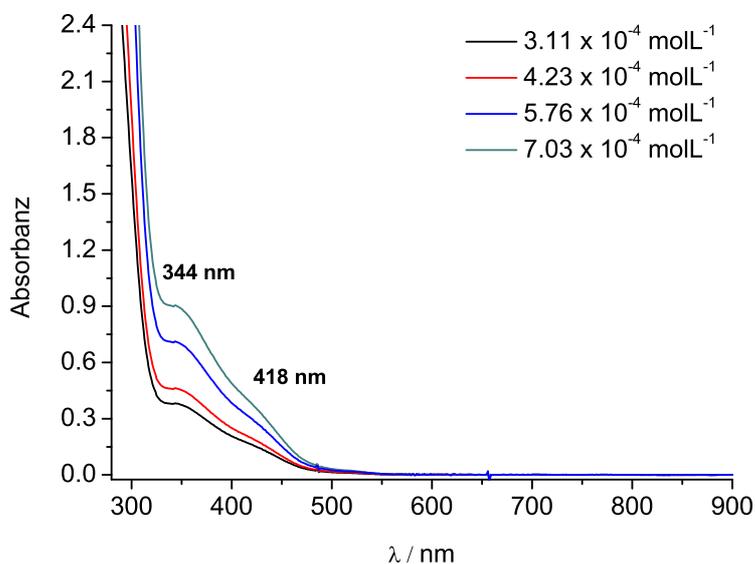


Abbildung 10.32: UV/Vis-Absorptionsspektren von 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion ($3.11 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $4.23 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $5.76 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und $7.03 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}\text{cm}^{-1}$), für die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten (Schichtdicke: $l = 1 \text{ cm}$, Dichlormethan).

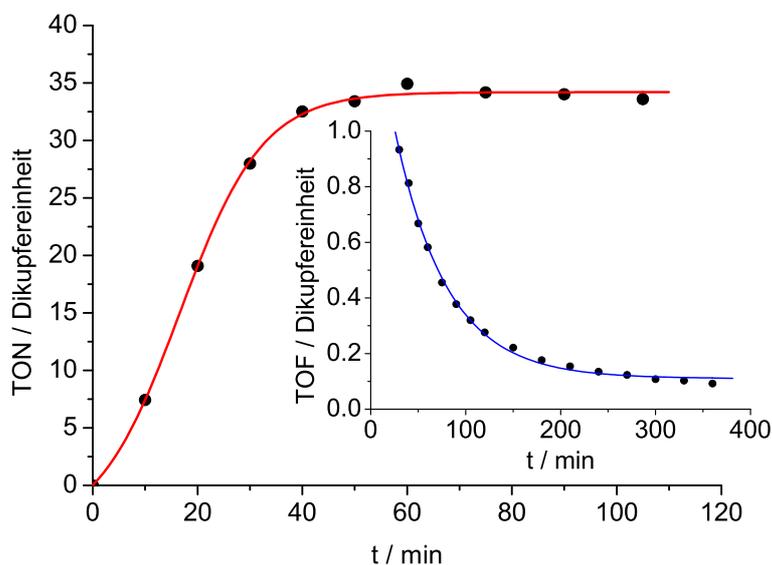


Abbildung 10.33: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Die daraus resultierende zeitabhängige Auftragung der *turnover number* pro und der *turnover frequency* pro Dikupfereinheit sind in Abbildung 10.33 gezeigt. Die maximale *turnover number* beträgt 35 nach 50 min.

Die Untersuchung der Tyrosinase-Aktivität von CuBIMZ in Anwesenheit von 4-MeOP-H zeigt, vergleichbar zu der Oxygenierung mittels CuLimz1, eine Absorptionsbande bei 418 nm (Abbildung 10.34).

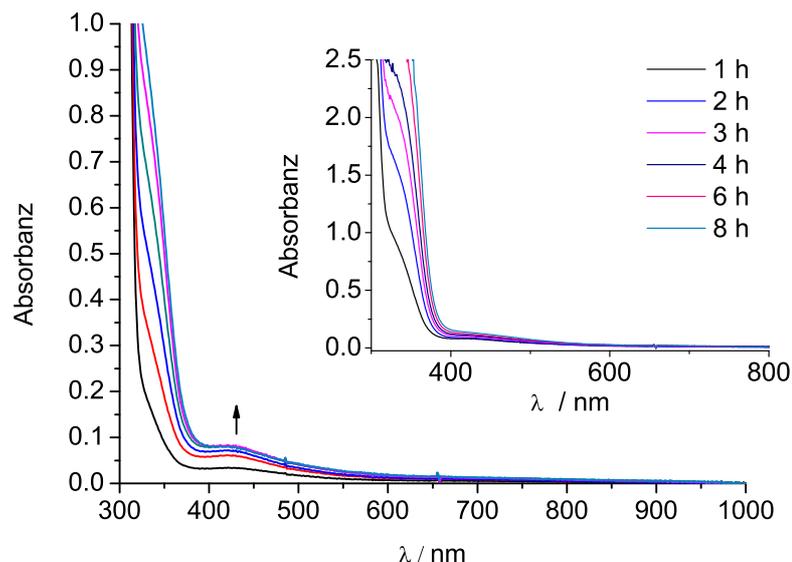


Abbildung 10.34: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ ($500 \mu\text{M}$) (Schichtdicke: $l = 1 \text{ mm}$, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 10 min detektiert, das letzte nach 1 h. Einschub: Oxygenierungsverlauf nach 1 h bis 8 h.

Die Intensität der Absorptionsbande ist deutlich geringer als bei der Umsetzung von 4-MeOP-H mittels CuLimz1. Die berechnete *turnover number* nach 1 h für das gekuppelte Chinon 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion beträgt 6.

Die Isolierung des Produktes erfolgte nachdem 1 h molekularer Sauerstoff in die Reaktionsmischung eingeleitet wurde. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt, anders als bei der Oxygenierung mittels CuLimz1, mehr als ein Reaktionsprodukt (Abbildung 10.35, Abbildung 10.36). Die identifizierbaren Komponenten sind 4-MeOP-H, Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion und 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon. Folglich ist CuBIMZ, bezogen auf das Substrat 4-MeOP-H, kein selektiver

Katalysator für die Bildung des korrespondierenden *ortho*-Chinons. Je länger oxygeniert wurde, desto mehr Nebenprodukte wurden detektiert.

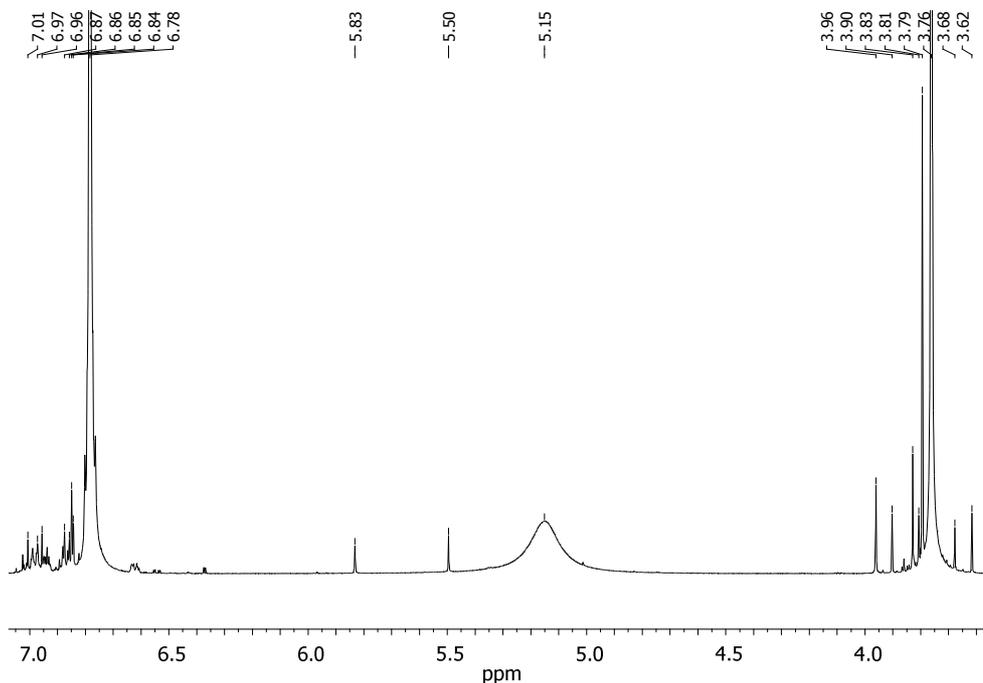


Abbildung 10.35: ^1H -NMR-Spektrum nach Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ ($500\ \mu\text{M}$) für 1 h (aufgenommen in CDCl_3).

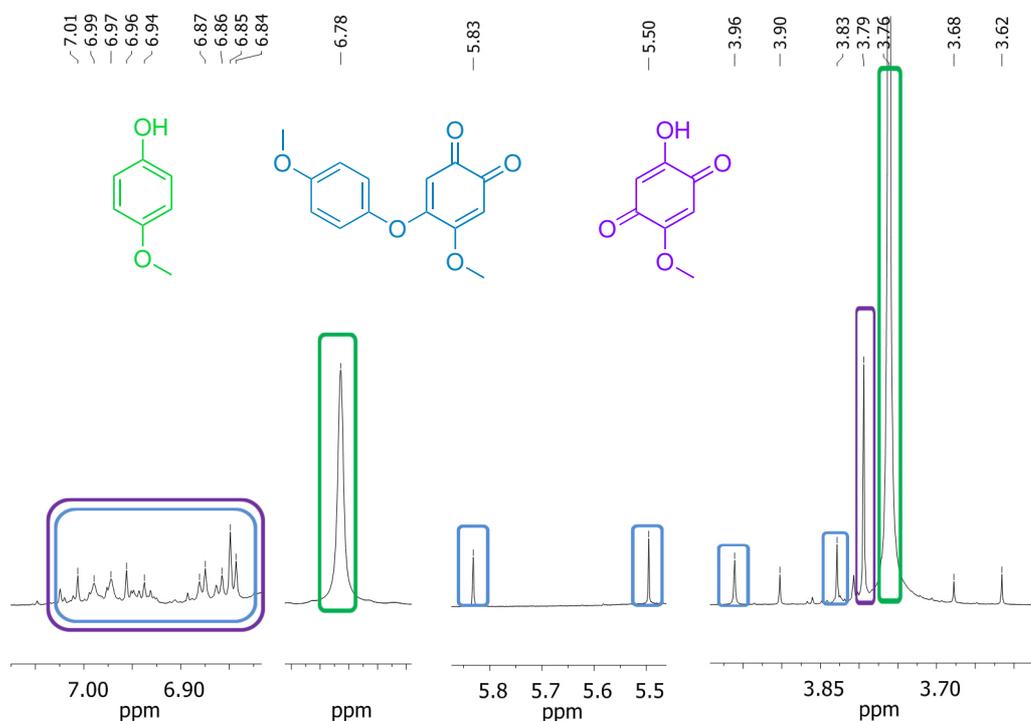


Abbildung 10.36: Ausgewählte Bereiche des ^1H -NMR-Spektrums nach Oxygenierung von 50 Äq. 4-MeOP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ ($500\ \mu\text{M}$) für 1 h.

10.1.2.3 Katalytische Oxygenierung von *N*-Acetyl-L-tyrosinethylester-monohydrat

Nachdem das klassische 2,4-DTBP-H sterisch und elektronisch variiert und dessen Einflüsse auf die Produktformation der eingesetzten Kupfer(I)-Komplexe untersucht wurde, sollte die katalytische Aktivität hinsichtlich des Substrates *N*-Acetyl-L-tyrosinethylester-monohydrat (NATEE) bestimmt werden. Der biomimetische Aspekt wurde bis hierhin bei der Substratwahl nicht berücksichtigt. Da Tyrosin als Substrat nicht verwendet werden konnte, da dieses nicht in Dichlormethan löslich ist, wurde NATEE gewählt. NATEE ist dem nativen Tyrosin sehr ähnlich und aufgrund der Veresterung der Carbonsäure-Funktion und der Substitution der primären Amin-Funktion gegen ein Amid auch in Dichlormethan löslich (Abbildung 10.37).

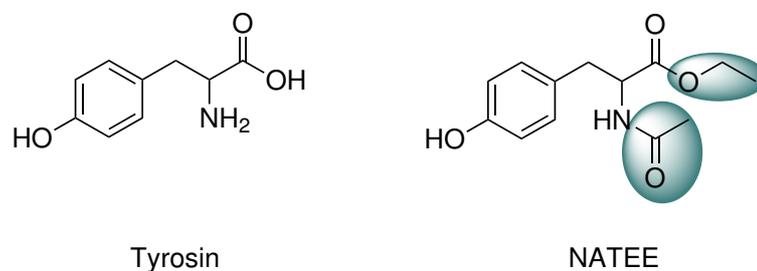


Abbildung 10.37: Vergleich der Struktur des nativen Tyrosins mit dem hier verwendeten NATEE.

Die Oxygenierung zu dem entsprechenden Dopachinon *N*-Acetyl-L-dopa wurde zunächst mit dem Katalysator CuLimz1 durchgeführt. Ausgehend von den oben beschriebenen Standardbedingungen, zeigte die Oxygenierung eine schnelle Umsetzung des Monophenols zum entsprechenden *ortho*-Chinon, was durch die Ausbildung einer Absorptionsbande bei 392 nm innerhalb der ersten 4 h verfolgt werden konnte (Abbildung 10.38). Die maximale *turnover number* beträgt zu diesem Zeitpunkt 25 ($\epsilon = 1188 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 392 \text{ nm}$)^[243]. Weiteres Einleiten von molekularem Sauerstoff führte anschließend jedoch zu einer Abnahme der Absorbanz bei 392 nm, was durch eine Verschiebung der Absorptionsbande zu 355 nm begleitet wurde (Abbildung 10.38, Einschub).

Die zeitabhängige Auftragung der *turnover number* und der *turnover frequency* pro Dikupfereinheit sind in Abbildung 10.39 gezeigt. Der Anstieg der Umsatzrate zeigt einen sigmoidalen Verlauf und erreicht nach 240 min das Maximum.

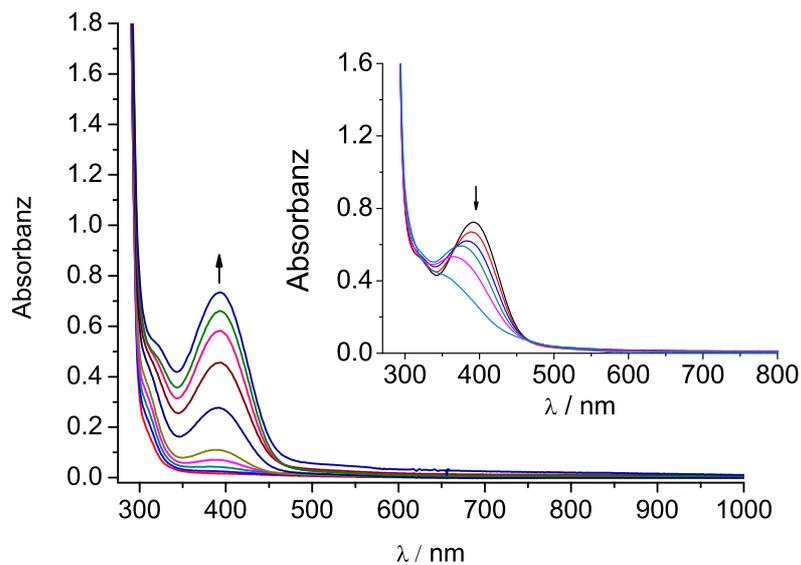


Abbildung 10.38: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. NATEE und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLimz1 ($500 \mu\text{M}$) (Schichtdicke: $l = 1 \text{ mm}$, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 10 min detektiert, das letzte nach 4 h. Einschub: Abnahme der Absorptionsbande bei 392 nm. Gezeigt ist der Zeitraum von 4 h bis 24 h.

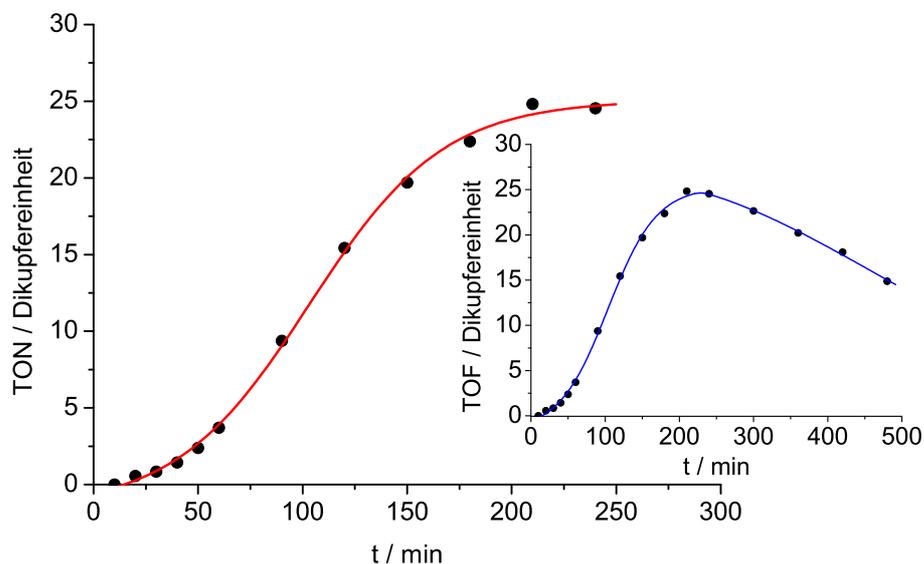


Abbildung 10.39: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von *N*-Acetyl-L-dopa pro Dikupferereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupferereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Eine Vermutung für die mögliche Abnahme der Absorptionsbande von *N*-Acetyl-L-dopa war eine nicht-enzymatische Tautomerisierungs-Reaktion, wie sie in Abbildung 10.40 gezeigt ist.^[243]

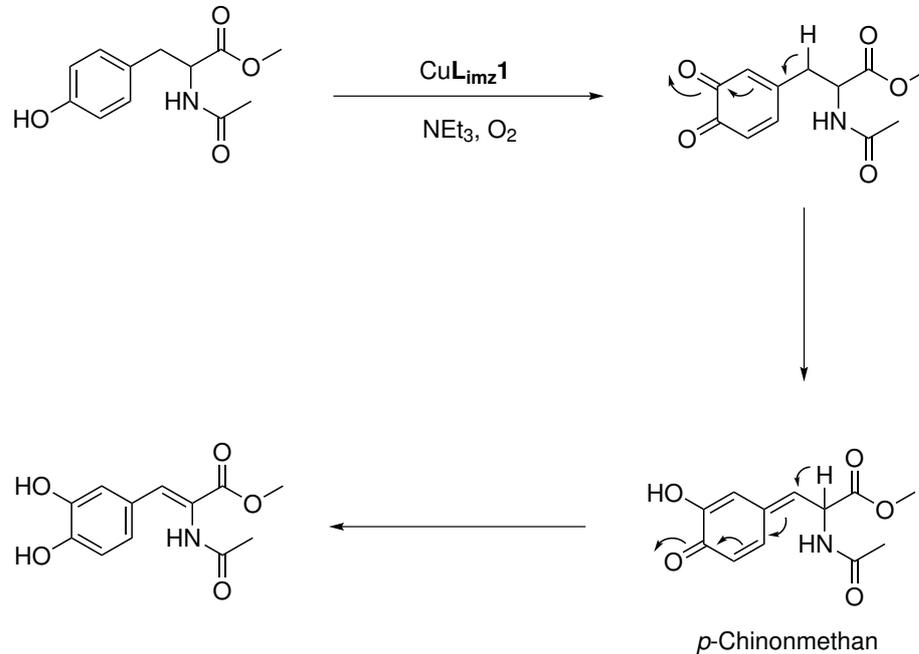


Abbildung 10.40: Nicht-enzymatische Tautomerisierungs-Reaktion von *N*-Acetyl-L-dopa.^[243]

Hierbei würde eine Umlagerung des *ortho*-Chinons zum *para*-Chinonmethan stattfinden, welches anschließend zum Enamid bzw. Catechol tautomerisiert und eine charakteristische Absorptionsbande bei 322 nm ($\epsilon = 14327 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) aufweist.^[243]

Das erhaltene NMR-Spektrum, nach Aufarbeitung der Reaktionslösung mit HCl, widerlegte jedoch diese Vermutung. Es gab keinen Hinweis auf die Bildung des Tautomerisierungsproduktes. Stattdessen weist das ¹H-NMR-Spektrum im Unterschied zum eingesetzten Edukt bei 6.02 ein Doublet auf, was bedeutet, dass nach der Oxygenierung nicht mehr das ursprünglich eingesetzte NATEE sondern *N*-(1-Ethoxy-1-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl)acetamid isoliert wurde (Abbildung 10.41).

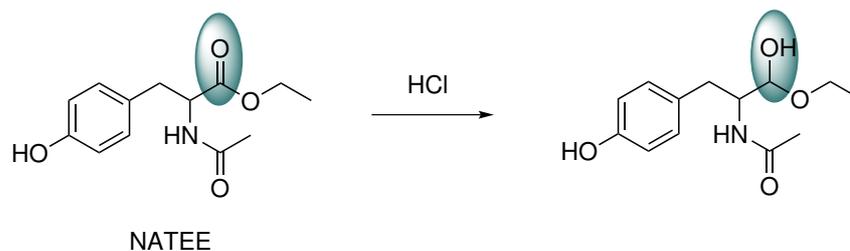


Abbildung 10.41: Protonierung der Ester-Funktion von NATEE.

Es kann davon ausgegangen werden, dass die Protonierung der Ester-Funktion während des HCl-Quenches stattgefunden hat. Ferner erfolgte die Abgabe der Spektren in deuteriertem Chloroform, welches immer Spuren von Salzsäure aufweist. Ein Lösen von NATEE in deuteriertem Chloroform bestätigte, dass selbst diese geringe Menge Salzsäure für eine vollständige Protonierung der Ester-Funktion ausreicht. Neben *N*-(1-Ethoxy-1-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl)acetamid konnte kein weiteres Produkt NMR-spektroskopisch detektiert werden.

Aus diesem Grunde wurde ein weiterer Versuch unternommen, das im UV/Vis-Spektrum detektierte *ortho*-Chinon zu isolieren. Hierfür wurde 3 h molekularer Sauerstoff in die Reaktionslösung eingeleitet und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in wenig Dichlormethan aufgenommen und an Kieselgel gereinigt. Als mobile Phase wurde Dichlormethan verwendet, da eine Reaktion mit dem Laufmittel vermieden werden sollte. Der Aufreinigungsversuch war jedoch nicht erfolgreich. Die erhaltenen Fraktionen beinhalteten nicht das gewünschte Produkt. Weiterhin wurde eine deutliche Hitzeentwicklung der stationären Phase beobachtet, was eine Reaktion des Produktes impliziert.

Da es ungenügend ist, eine Aussage über das entstandene Produkt ausschließlich über das UV/Vis-Spektrum zu treffen, wurde versucht, das Produkt massenspektrometrisch nachzuweisen. Hierfür wurde in die Reaktionslösung 3 h molekularer Sauerstoff eingeleitet und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde mittels Maldi-TOF untersucht und ein Signal für das entsprechende Catechol $m/z = 268.2 [M + H]$, $252.0 [NATEE + H]$ gefunden (Abbildung 13.4), womit eine Hydroxylierung des Monophenols bestätigt werden konnte.

Eine massenspektrometrische Untersuchung liefert, im Gegensatz zu einem NMR-Spektrum, keine Aussage über die Konnektivität des Chinons. Da sich gezeigt hat, dass das Dopachinon einem HCl-Quench nicht standhält, dieser aber für die Eliminierung der Kupfer(II)-Spezies vor Aufnahme eines NMR-Spektrums erforderlich ist, wurde das entstehende Chinon als Phenazinderivat stabilisiert (Abbildung 10.42) und die Reaktion mit Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie verfolgt (Abbildung 10.43).

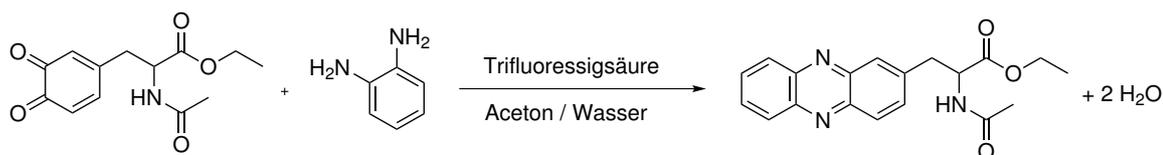


Abbildung 10.42: Reaktion von *N*-Acetyl-L-dopa mit *ortho*-Phenyldiamin zu dem entsprechenden Phenazinderivat.

Da weder *N*-Acetyl-L-dopa noch dessen Catechol, welches durch Reaktion mit Triethylamin und molekularem Sauerstoff in das *ortho*-Chinon überführt werden kann, kommerziell erhältlich sind, wurde die Reaktion ausschließlich mit dem während der Reaktion synthetisierten Produkt durchgeführt. Hierfür wurde analog zu Kapitel 10.1.2.1 20 mL der Reaktionslösung hergestellt und für 2 h molekularer Sauerstoff eingeleitet. Eine längere Reaktionsdauer erhöht die Bildung des Zerfallsproduktes, welches möglicherweise bei der Messung stören könnte, woraufhin die Reaktion schon nach 2 h abgebrochen wurde. 10 mL dieser Reaktionslösung wurden entnommen und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 25 mL Aceton aufgenommen und anschließend 13.5 mg *ortho*-Phenyldiamin hinzugefügt, woraufhin sich diese leuchtend blau/türkis färbte. Nach Zugabe von 20 mL einer 1 %-igen wässrige Trifluoressigsäure-Lösung fand ein Farbumschlag nach gelb statt. Der Ansatz wurde für 15 min unter Rückfluss erhitzt. Abbildung 10.43 zeigt die UV/Vis-Spektren von *N*-Acetyl-L-dopa nach Einleiten von Sauerstoff in die Reaktionslösung für 2 h (blau) und nach Umsetzung mit *ortho*-Phenyldiamin (rot). Das Maximum von Dopachinon bei 392 nm verschiebt sich nach der Derivatisierung zum Phenazinderivat zu höherer Energie (377 nm).

Für die Fluoreszenzmessung wurde erneut das Lösungsmittel entfernt und der braune, ölige Rückstand in Methanol gelöst. Das Fluoreszenzspektrum wurde mit einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$ aufgenommen und zeigt eine Bande bei 523 nm, welche charakteristisch für Phenazinderivate ist.^[240, 241] Die Messung liefert einen weiteren wichtigen Beitrag, da anhand der erfolgreichen Synthese des Phenazinderivates darauf geschlossen werden kann, dass die Hydroxylierung, welche auch durch das Massenspektrum bestätigt wurde, in *ortho*-Position stattgefunden haben muss.

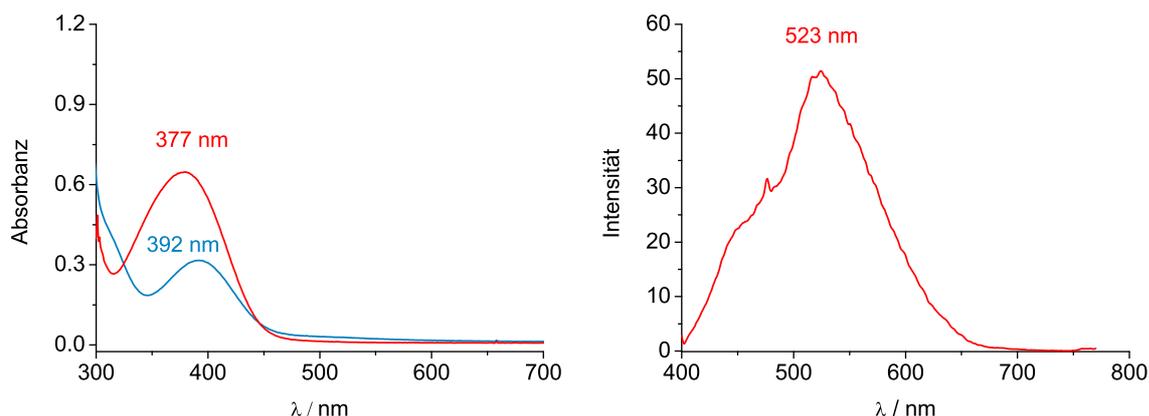


Abbildung 10.43: Links: UV/Vis-Absorptionsspektren nach Oxygenierung von 50 Äq. NATEE und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuL_{imz}1 (500 μM). Die Spektren wurden aufgenommen nach Einleiten von O₂ für 2 h (blau) und nach Derivatisierung mit *ortho*-Phenylendiamin in einem Aceton/Wasser Gemisch (25 : 20) (rot) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Rechts: Fluoreszenzspektrum des Phenazinderivates in Methanol. Die Anregungswellenlänge betrug $\lambda_{\text{ex}} = 380$ nm.

10.1.2.4 Katalytische Oxygenierung von 8-Hydroxychinolin

Ein weiteres Substrat, welches aktuell in der Literatur Verwendung findet, ist 8-Hydroxychinolin.^[171, 244] Um die Tyrosinase-Aktivität der hier entwickelten Kupfer(I)-Modellsysteme (CuL_{imz}1 und CuBIMZ) bestmöglich mit denen in der Literatur vergleichen zu können, wurde dieses Substrat ebenfalls verwendet, um die katalytische Effizienz der Modellsysteme besser einstufen zu können. Des Weiteren zeichnet sich eine hohe Verwendbarkeit eines Katalysators sowohl durch eine große Vielfalt der zu oxygenierenden Substrate als auch durch die Bildung eines definierten Produktes aus.

Das resultierende *ortho*-Chinon 7,8-Chinolindion ist aufgrund seiner intensiven Absorptionsbande bei 413 nm ($\epsilon = 1000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)^[245] ebenfalls UV/Vis-spektroskopisch zu verfolgen. Die Oxygenierungs-Reaktionen von CuL_{imz}1 und CuBIMZ zeigen das gleiche Verhalten. Nach Zusammenfügen der Komplexkomponente mit 8-Hydroxychinolin, färbte sich die Reaktionslösung hellgelb. Nach Zugabe von 100 Äq. Triethylamin, wurde das Gemisch schlagartig dunkelgelb. Die Aufnahme eines UV/Vis-Spektrums zu diesem Zeitpunkt wies eine Absorptionsbande bei 412 nm auf, die zunächst dem 7,8-Chinolindion zugeordnet wurde. Da das eingesetzte Triethylamin vor der Verwendung nicht entgast wurde, wäre es theoretisch möglich gewesen, durch Zugabe der

Base, die Tyrosinase-Reaktion zu starten. Einleiten von molekularem Sauerstoff führte auch nach 3 h zu keiner weiteren Zunahme der Intensität. Es ist zudem auffällig, dass die Absorbanz sowohl für CuL_{imz}1 als auch für CuBIMZ einen Wert von 0.3 aufweist und somit unabhängig von dem eingesetzten Katalysator ist (Abbildung 10.44).

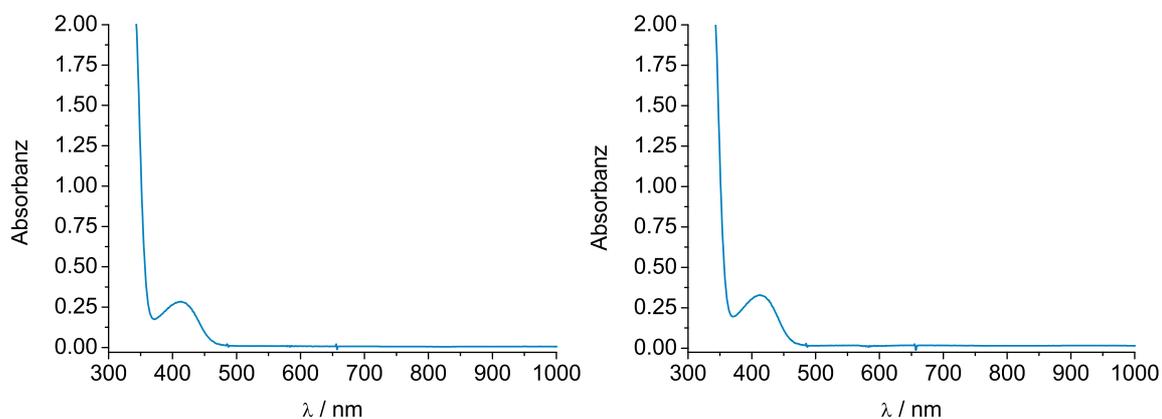


Abbildung 10.44: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 8-Hydroxychinolin und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLX (LX = L_{imz}1 und BIMZ) (500 μ M) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Links: Oxygenierung mittels CuL_{imz}1; rechts: Oxygenierung mittels CuBIMZ.

Die NMR-spektroskopische Untersuchung nach Aufarbeitung mit Salzsäure wies ausschließlich das Edukt auf. Des Weiteren zeigte die UV/Vis-Messung *nach* erfolgtem HCl-Quench keine Absorptionsbande mehr bei 412 nm. Da es demnach nicht möglich war, das entstandene Produkt durch Zugabe von HCl zu isolieren, wurde das Produkt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt ($R_f = 0.31$). Als Laufmittel wurde Dichlormethan gewählt, welches auch für die Katalyse verwendet wurde, da auch hier eine Reaktion des Produktes mit dem Laufmittel vermieden werden sollte. Die anschließende UV/Vis-Messung in Dichlormethan zeigte, dass das Produkt der Katalyse erfolgreich isoliert werden konnte (Abbildung 10.45).

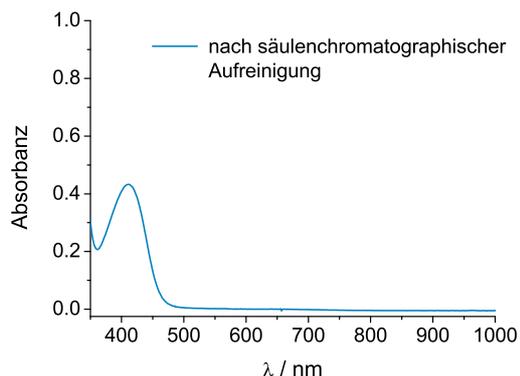


Abbildung 10.45: UV/Vis-Spektrum nach säulenchromatographischer Aufreinigung des Oxygenierungsproduktes (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan).

Die Entfernung des Lösungsmittels ergab ein gelbes, kristallines Pulver. Das dazugehörige NMR-Spektrum zeigt sechs Protonen im aromatischen Bereich, was eine *ortho*-Hydroxylierung in Position 7 ausschließt (Abbildung 10.46).

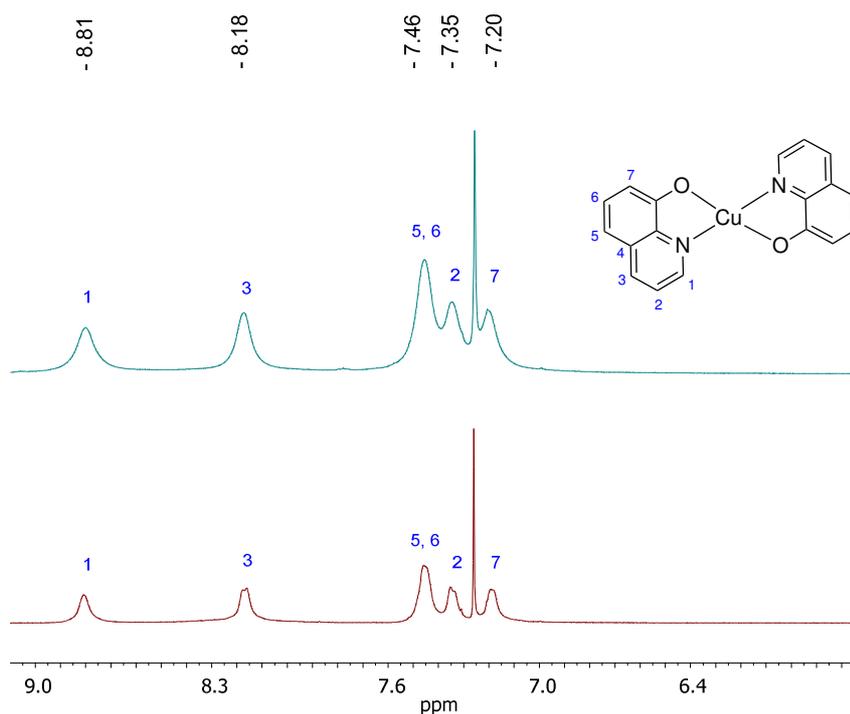


Abbildung 10.46: Oben: ^1H -NMR-Spektrum in CDCl_3 nach säulenchromatographischer Aufreinigung der Oxygenierungs-Lösung von 50 Äq. 8-Hydroxychinolin und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ . Unten: ^1H -NMR-Spektrum nach säulenchromatographischer Aufreinigung der Oxygenierungs-Lösung von 50 Äq. 8-Hydroxychinolin und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLimz1 .

Die chemische Verschiebung der Protonen ist allerdings nicht identisch mit dem Edukt. Weiterhin ist zu vermerken, dass die Signale deutlich verbreitert sind, was auf einen paramagnetischen Anteil in der Probe schließen lässt. Demzufolge wurde vermutet, dass sich ein Kupfer(II)-Komplex gebildet hat. Es ist bekannt, dass 8-Hydroxychinolin mit zwei- oder mehrwertigen Metallionen sogenannte Oxinate bilden kann, welche v. a. zur quantitativen Metallbestimmung verwendet werden. Es besitzt damit eine hohe Tendenz stabile Metallkomplexe zu bilden. Da die NMR-Spektren, unabhängig von dem eingesetzten Katalysator, die gleichen Signale aufweisen, wurde ein Kupfer(II)-Komplex ($[\text{Cu}(\text{II})(8\text{-Hydroxychinolin})_2]$) postuliert, an dem zwei deprotonierte Substratmoleküle koordinieren. Ferner würde die Bildung eines $[\text{Cu}(\text{II})(8\text{-Hydroxychinolin})_2]$ -Komplexes die intensive Gelbfärbung nach Zugabe von Triethylamin erklären. Durch die Deprotonierung ist das Substrat in der Lage, an das Kupferzentrum zu binden, was zur Ausbildung von $[\text{Cu}(\text{II})(8\text{-Hydroxychinolin})_2]$ und gleichzeitig zu einer Farbänderung der Lösung führt. Um diese Annahme zu beweisen, wurde ein stöchiometrisches Experiment durchgeführt. Es wird erwartet, dass hierbei die maximale Absorbanz nur halb so groß ist, als bei einem Überschuss des Substrates. Dieses Experiment wurde mit einer $500\ \mu\text{M}$ Lösung CuBIMZ in Dichlormethan, 1 Äq. 8-Hydroxychinolin und 1 Äq. Triethylamin durchgeführt. Das resultierende UV/Vis-Spektrum zeigt eine Absorbanz von 0.15 bei 412 nm, was die oben aufgestellte Hypothese bestätigt. In Abbildung 10.47 sind die Spektren der Oxygenierung mit 50 Äq. bzw. 1 Äq. 8-Hydroxychinolin dargestellt.

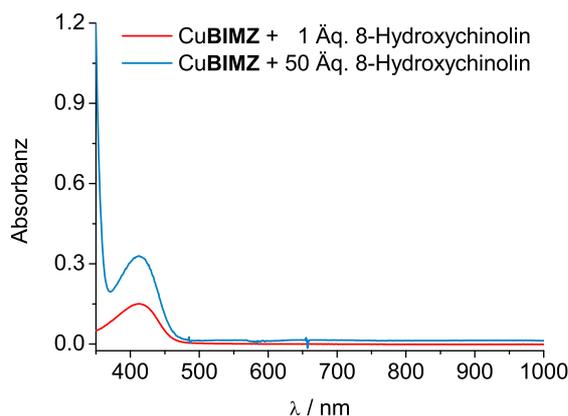


Abbildung 10.47: Blau: UV/Vis-Absorptionsspektrum nach Oxygenierung von 50 Äq. 8-Hydroxychinolin und 100 Äq. Triethylamin für 10 min in Anwesenheit von CuBIMZ ($500\ \mu\text{M}$). Rot: UV/Vis-Absorptionsspektrum nach Oxygenierung von 1 Äq. 8-Hydroxychinolin und 100 Äq. Triethylamin für 10 min in Anwesenheit von CuBIMZ ($500\ \mu\text{M}$) (Schichtdicke: $l = 1\ \text{mm}$, Dichlormethan).

Die Aufnahme eines Massenspektrums des säulenchromatographisch aufgereinigten Produktes zeigte eine Masse (EI) von $m/z = 351.00$, was der Masse von $[\text{Cu(II)}(\text{8-Hydroxychinolin})_2]$ entspricht (Abbildung 13.5). Da die Struktur des Kupfer(II)-Komplexes literaturbekannt ist, wurde ein Pulverdiffraktogramm (PD) aufgenommen und mit dem der Literatur verglichen (Abbildung 10.48).

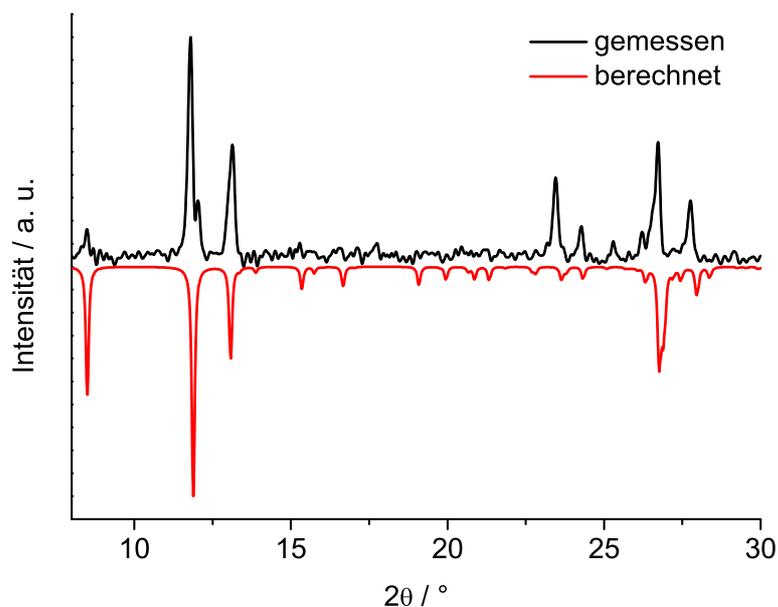


Abbildung 10.48: Vergleich des Röntgenpulverdiffraktogramms nach Oxygenierung von 50 Äq. 8-Hydroxychinolin und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuBIMZ (500 μM) mit dem berechneten Pulverdiffraktogramm ausgehend von Einkristallstrukturdaten von $[\text{Cu(II)}(\text{8-Hydroxychinolin})_2]$ von PALENIK.^[246]

Das erhaltene PD zeigt eine eindeutige Übereinstimmung mit dem berechneten PD. Die zusätzlichen Reflexe bei 14° und 27° 2θ deuten auf leichte Verunreinigungen der Probe hin, so dass das untersuchte Produkt zwar nicht phasenrein ist, jedoch zweifellos als $[\text{Cu(II)}(\text{8-Hydroxychinolin})_2]$ identifiziert werden kann. Die geringe Intensität und die schlechte Auflösung der Reflexe deuten auf eine niedrige Kristallinität der Probe hin. Bedingt durch Textureffekte, treten leichte Intensitätsunterschiede des gemessenen PDs gegenüber dem berechneten PD auf. Alle Reflexe des berechneten PDs sind im gemessenen PD leicht zu größeren 2θ Winkeln verschoben, was wahrscheinlich auf einen Kalibrierfehler des Gerätes zurückzuführen ist.

Der Oxygenierungsversuch von 8-Hydroxychinolin führt demnach nicht zu einer *ortho*-Hydroxylierung mit anschließender Zweielektronen-Oxidation des Monophenols,

sondern zum Austausch der Liganden (**BIMZ** bzw. **L_{imz1}**) gegen 8-Hydroxychinolin und damit zur Ausbildung des [Cu(II)(8-Hydroxychinolin)₂]-Komplexes. Folglich stellt 8-Hydroxychinolin kein geeignetes Substrat für die Tyrosinase-Reaktion mit Cu**BIMZ** und Cu**L_{imz1}** dar. Die in der Literatur beschriebene Umwandlung zu 7,8-Chinolindion erfolgte durch Einsatz eines Kupfer(I)-Komplexes, welcher einen tridentaten Liganden enthält.^[171, 244] Durch den Chelat-Effekte des tridentaten Liganden, ist der Austausch gegen das bidentate Monophenol nicht bevorzugt, so dass eine Oxygenierung stattfinden kann. Da in dieser Arbeit ausschließlich bidentate Liganden verwendet wurden, kann der Austausch möglicherweise durch eine höhere Bindungskonstante des 8-Hydroxychinolins im Vergleich zu **L_{imz1}** bzw. **BIMZ** begründet werden.

10.2 Stöchiometrische Oxygenierung von 2,4-Di-*tert*-butylphenol

Nachdem die katalytischen Tyrosinase-Aktivitäten der fünf entwickelten Kupfer(I)-Modellsysteme ausgiebig untersucht wurden, ist der nächste Aspekt, der in den Fokus tritt, der Mechanismus, der die Umwandlung dieser Monophenole zu den entsprechenden *ortho*-Chinonen beschreibt. In vorangegangenen Studien, die sich mit dem Cu**L_{py1}** System befassten, wurden bereits Untersuchungen durchgeführt, die einen Hinweis auf den mechanistischen Zyklus liefern.^[166] Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu dem Cu**L_{py1}** System, wird in einer ersten Annäherung ein analoger Mechanismus postuliert (Abbildung 10.49).

Im ersten Schritt der Reaktionsfolge reagiert der eingesetzte Kupfer(I)-Komplex mit Triethylamin und 2,4-DTBP-H zu Compound 2 ([Cu(I)(**LX**)(NEt₃)]PF₆; **LX** = **L_{oL1-3}**, **L_{imz1}**, **BIMZ**). Durch Einleiten von Sauerstoff bildet sich das jeweilige Peroxo-Intermediat als wichtige Zwischenstufe aus (Compound 3), welches als aktive Spezies in dem natürlichen Enzym definiert wurde. Dieser binukleare Kupfer(II)-Komplex koordiniert je Metallzentrum ein Phenolat. Anschließend findet ein elektrophiler Angriff der Peroxo-Einheit in *ortho*-Position des Monophenols statt und ein Catecholato-Kupfer(II)-Komplex (Compound 4) wird gebildet. Durch Einstellen der katalytischen Bedingungen wird das

gewünschte *ortho*-Chinon freigesetzt und Compound 2 als Katalysator zurückgewonnen, welches erneut den Katalysezyklus durchlaufen kann.

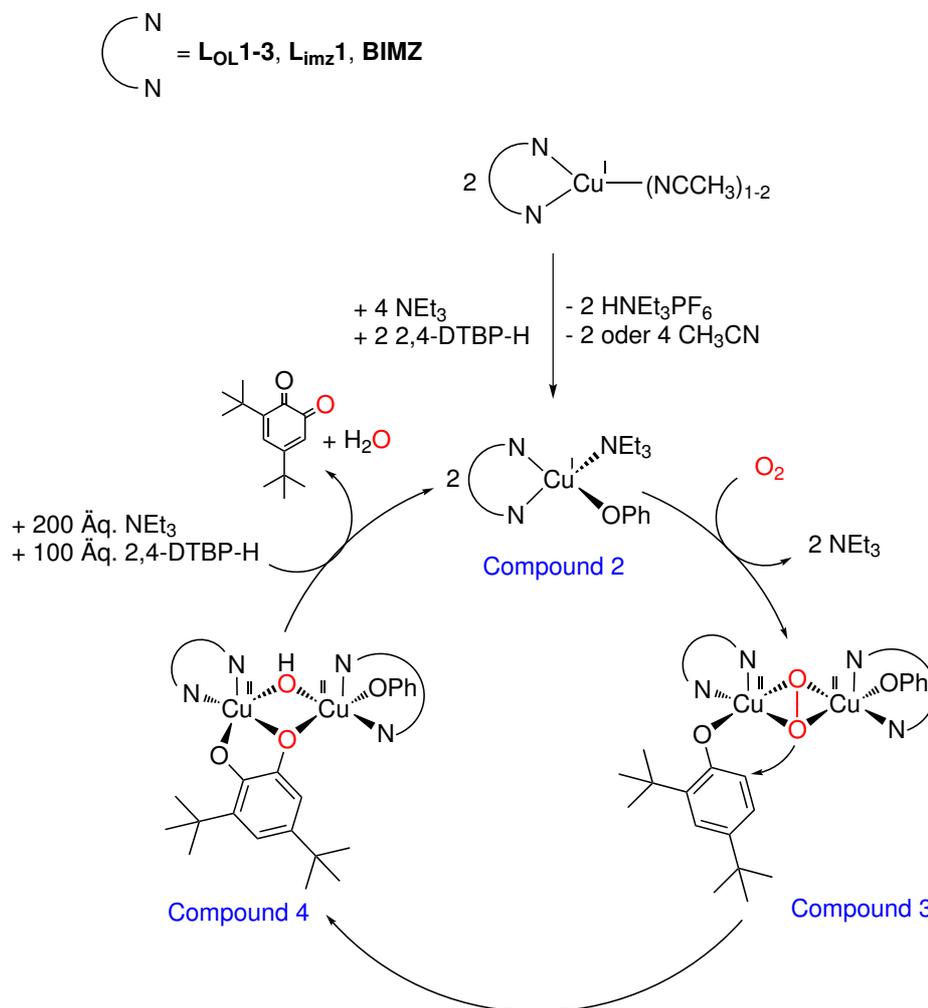


Abbildung 10.49: Postulierter Tyrosinase-Zyklus der Modellsysteme $\text{CuL}_{\text{OL}}\mathbf{1-3}$, $\text{CuL}_{\text{imz}}\mathbf{1}$ und CuBIMZ .

Eine stöchiometrische Oxygenierung ermöglicht es Zwischenstufen während der Oxygenierung besser verfolgen und detektieren zu können, da hierdurch der Katalysezyklus schrittweise durchlaufen wird. Für die stöchiometrischen Untersuchungen wurde, ausgehend von jedem der fünf Kupfer(I)-Komplexe, eine $500 \mu\text{M}$ Lösung von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{LX})(\text{NEt}_3)]\text{PF}_6$ mit ($\text{LX} = \text{L}_{\text{OL}}\mathbf{1-3}$, $\text{L}_{\text{imz}}\mathbf{1}$, BIMZ) hergestellt. Diese Kupfer(I)-Spezies werden im Folgenden als Compound 2 ($2^{\text{L}_{\text{OL}}\mathbf{1}}$, $2^{\text{L}_{\text{OL}}\mathbf{2}}$, $2^{\text{L}_{\text{OL}}\mathbf{3}}$, $2^{\text{L}_{\text{imz}}\mathbf{1}}$, 2^{BIMZ}) abgekürzt. Für die Darstellung von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{LX})(\text{NEt}_3)]\text{PF}_6$ wurde unter inerten Bedingungen eine $500 \mu\text{M}$ Lösung der jeweiligen Kupfer(I)-Komplexe in Dichlormethan gelöst und 2 Äq. Triethylamin sowie 1 Äq. 2,4-DTBP-H hinzugefügt und das Produkt UV/Vis-spektroskopisch untersucht (Abbildung 10.50 blau).

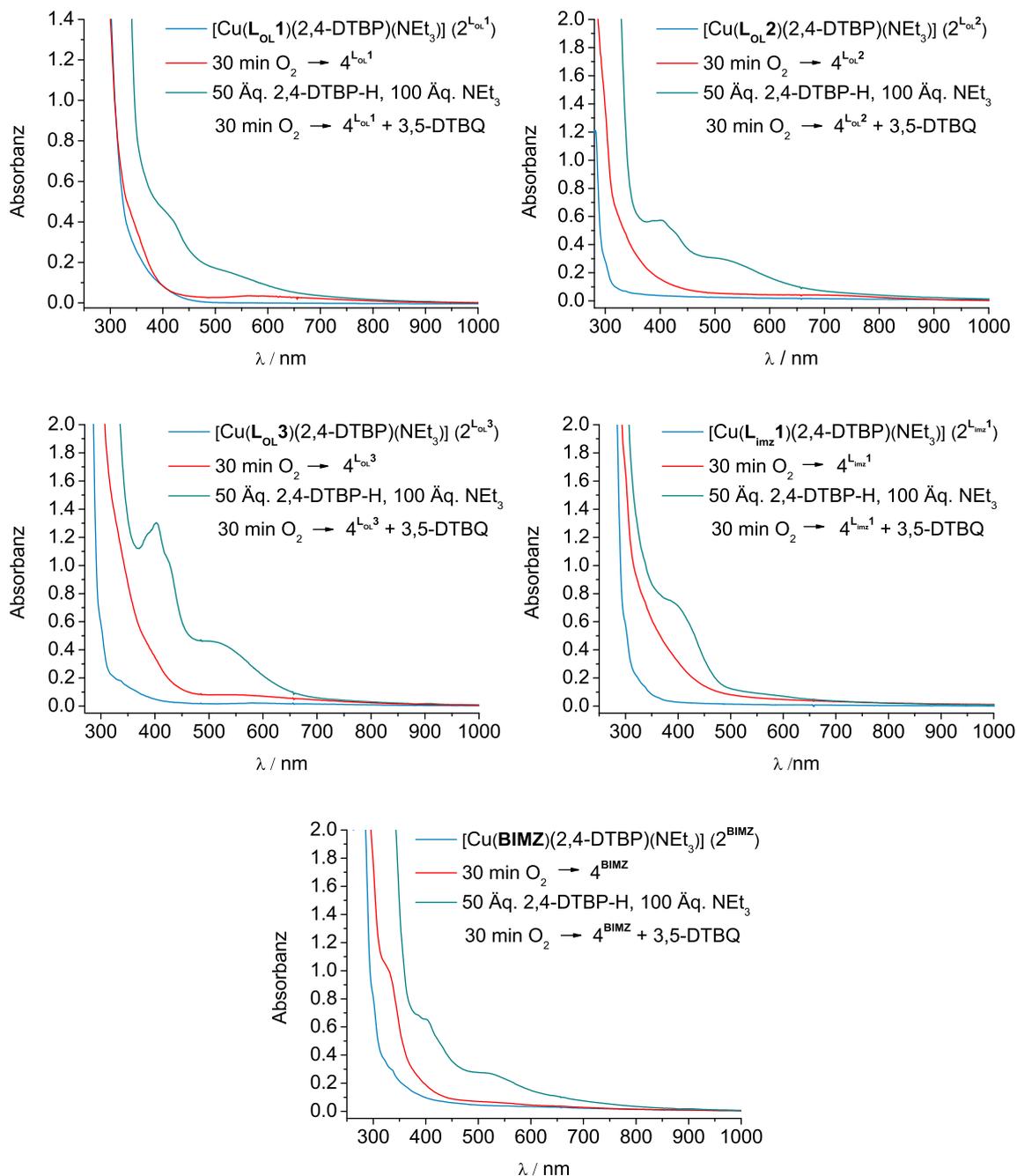


Abbildung 10.50: Stöchiometrische Oxygenierung von 2,4-DTBP-H in Anwesenheit von $[Cu(I)(LX)(NEt_3)]PF_6$ ($LX = L_{ol}1-3, L_{imz}1, BIMZ$) ($500 \mu M$) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Oben links: $CuL_{ol}1$; oben rechts: $CuL_{ol}2$; Mitte links: $CuL_{ol}3$; Mitte rechts: $CuL_{imz}1$; unten: $CuBIMZ$.

Die Spektren weisen eine schwache Schulter zwischen 300 nm und 330 nm auf, welche durch einen Phenolato zu Kupfer(I) Charge-Transfer-Übergang bedingt ist. Durch anschließendes Einleiten von Sauerstoff in die Reaktionslösung für 30 min bildete sich bei allen Modellsystemen eine Schulter bei ca. 340 nm aus. Besonders definiert war diese für

die Komplexe mit den Liganden **LoL1** und **BIMZ**. Bei genauerer Betrachtung kann zudem noch eine weitere, weniger intensive Absorptionsbande bei ca. 420-430 nm vermutet werden. Im Gegensatz zu den Systemen mit den Liganden **LoL2-3**, **Limz1** und **BIMZ**, ist diese Absorptionsbande in dem System mit **LoL1** als Ligand kaum sichtbar. Diese spektroskopischen Veränderungen lassen den Schluss zu, dass die Zufuhr von Sauerstoff zu einer Umwandlung des Phenolato-Kupfer(I)-Komplexes (Compound 2) in den Catecholato-Kupfer(II)-Komplex (Compound 4) geführt hat. Der Catecholato-Kupfer(II)-Komplex mit dem Liganden **L-66**, welcher von CASELLA und Mitarbeiter entwickelt und untersucht wurde, weist ebenfalls Absorptionsbanden des entsprechenden Catecholato-Kupfer(II)-Intermediates bei 340 nm und 430 nm auf.^[157] Die Freisetzung von Chinon wird durch Zugabe von 2,4-DTBP-H und Triethylamin im Überschuss erzielt. Nach Einstellen der katalytischen Bedingungen, fallen erste Unterschiede in den resultierenden Spektren auf (Abbildung 10.50, grün). Die stöchiometrische Oxygenierung des aktivsten Tyrosinase-Modellsystems **CuLimz1** zeigt eine charakteristische Bande bei 403 nm, welche dem 3,5-DTBQ zuzuordnen ist. In Analogie zum **CuLpy1** kann somit der zugrunde gelegte mechanistische Zyklus auch für den **CuLimz1** Komplex postuliert werden. Im Fall von **CuLoL1** ist ebenfalls eine Absorptionsbande bei 403 nm detektiert worden. Der Unterschied zu **CuLimz1** besteht in einer weiteren, weniger intensiven Bande bei ca. 520 nm. Diese Absorptionsbande ist ebenfalls bei den Modellsystemen **CuLoL2-3** und **CuBIMZ** zu beobachten, welche alle eine geringere katalytische Aktivität aufweisen als **CuLimz1**. Ferner ist anzumerken, dass die Modellsysteme **CuLoL2-3** und **CuBIMZ** eine Doppelbande bei ca. 400 nm aufweisen. Ähnliche Absorptionsmerkmale wurden in Kapitel 9.5 für freies 3,5-DTBSQ (377 nm und 394 nm) und den $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)}]\text{PF}_6$ -Komplex (523 nm und 900 nm) diskutiert. Für den Fall, dass sich während der Katalyse intermediär ein Kupfer(II)-Semichinon-Komplex bzw. freies Semichinon (3,5-DTBSQ) ausbildet, muss der Reaktionszyklus analog zu OTTENWAELDER *et al.*^[164] erweitert werden (Abbildung 10.51).

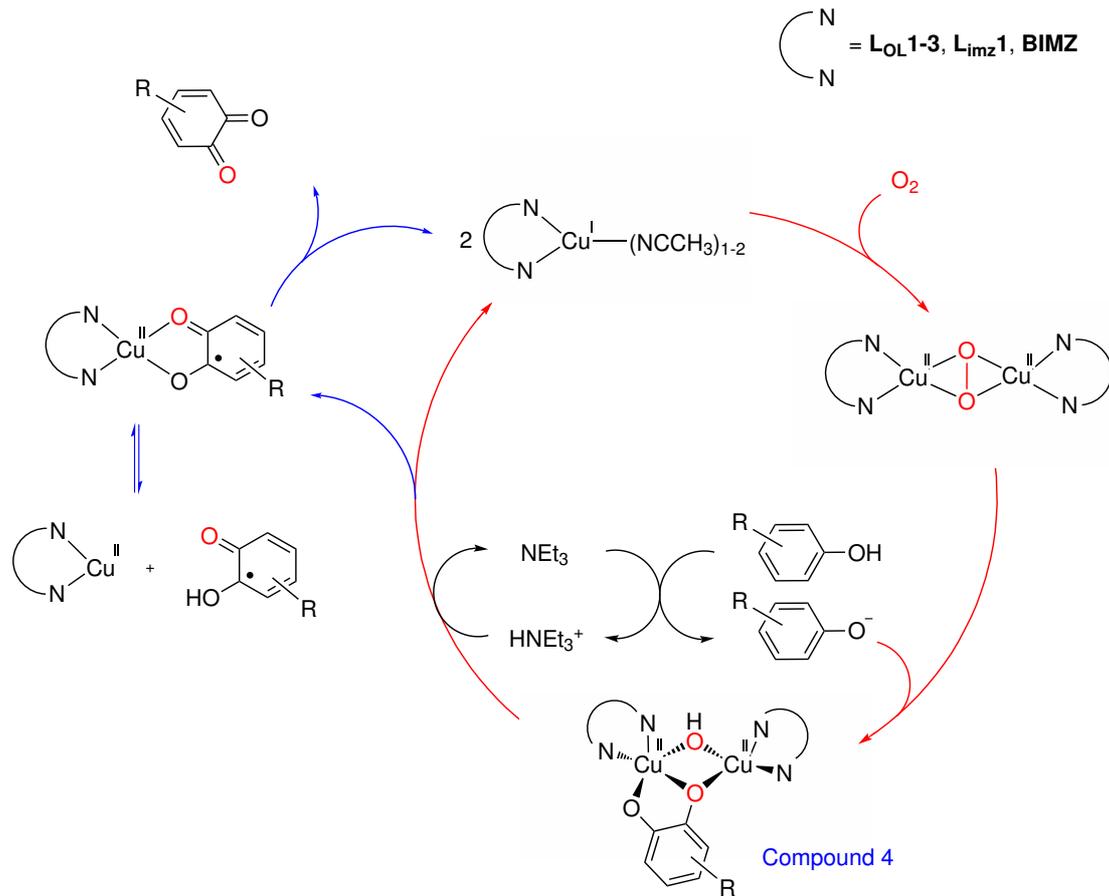


Abbildung 10.51: Erweiterung (blaue Route) des mechanistischen Zyklus der Tyrosinase-Reaktion.

Bei dem erweiterten mechanistischen Zyklus der Tyrosinase-Reaktion in Abbildung 10.51 verläuft die Reaktion bis zur Ausbildung von Compound 4 identisch zu dem in Abbildung 10.49 gezeigten Mechanismus. Ausgehend von dieser Zwischenstufe, kann es entweder zur Freisetzung von 3,5-DTBQ kommen oder zur Generierung eines Semichinon-Komplexes ([Cu(II)(LX)(3,5-DTBSQ)]PF₆, LX = L_{OL}2-3, CuBIMZ). Der Kupfer(II)-Semichinon-Komplex steht hierbei wieder im Gleichgewicht mit freiem Semichinon und einer Kupfer(II)-Spezies. Im Gegensatz zu dem freien Semichinon, welches bei der Catechol Oxidase-Reaktion detektiert wurde, befindet sich die Doppelbande bei der hier vorgestellten stöchiometrischen Oxygenierung bei ca. 385 nm und 400 nm und ist damit geringfügig zu niedriger Energie verschoben. Die Absorptionsbande bei 523 nm stimmt jedoch gut mit der Absorptionsbande bei 523 nm für den [Cu(II)(L_{OL}1)(3,5-DTBSQ)]PF₆-Komplex überein. Überraschenderweise ist bei keinem der Systeme eine Bande bei ca. 900 nm zu erkennen, wie sie in Abschnitt 9.5 für [Cu(II)(L_{OL}1)(3,5-DTBSQ)]PF₆ gefunden wurde. Demnach kann hier die Bildung einer Kupfer(II)-Semichinon-Spezies nicht

zweifelsfrei postuliert werden. Dennoch ist es sehr wahrscheinlich, dass die Absorptionsbande bei 520 nm auf ein Addukt des Kupfer-Komplexes und dem oxygenierten Produkt (Semichinon oder Chinon) basiert. Eine solche Kupferspezies könnte möglicherweise auf einen Zerfall, ausgehend von Compound 4, zurückzuführen sein. In diesem Fall würde man für die Oxazolin-basierten Modellsysteme von einer erschwerten Produktfreisetzung sprechen. CuBIMZ stellt hierbei einen Grenzfall dar, da dieses Tyrosinase-Modellsystem ebenfalls die Absorptions-merkmale für eine erschwerte Freisetzung aufweist, aber dennoch in geringem Maße katalytisch aktiv ist.

10.3 Tieftemperaturoxygenierung der Kupfer(I)-Modellkomplexe

Der Schlüsselschritt für die Hydroxylierung des Monophenols in *ortho*-Position, ist die Bildung des $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-dikupfer(II)-Komplexes als reaktives Intermediat im mechanistischen Tyrosinase-Zyklus.^[10, 11, 12] Diese Spezies konnte während der vorangegangenen stöchiometrischen Untersuchungen bei Raumtemperatur nicht beobachtet werden. Die entsprechenden $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-dikupfer(II)-Komplexe sind oft sehr kurzlebig und können somit während der Oxygenierung bei Raumtemperatur nicht detektiert werden. Eine Ausnahme stellen die Kupfer(I)-Komplexe mit tripodalen Liganden von HERRES-PAWLIS *et al.*^[171] dar. Dieser Arbeitsgruppe gelang es, durch die Verwendung von Kupfer(I)-Komplexen mit tridentaten Bis(pyrazolyl)methanen, ein raumtemperaturstabiles Peroxo-Intermediat zu erzeugen. Eine andere Variante für weniger stabile Peroxo-Einheiten, stellt das Einleiten von Sauerstoff in eine Kupfer(I)-Komplexlösung bei tiefen Temperaturen dar, was eine Charakterisierung des side-on verbrückten Peroxo-Intermediates ermöglichen kann.

Für neue Ligandensysteme ist es von großem Interesse diese reaktive Zwischenstufe zu charakterisieren, da eine Variation des Ligandensystems, neben den veränderten elektronischen Eigenschaften, auch eine mögliche Veränderung der Koordinationsgeometrie des aktiven Zentrums zur Folge haben kann. Dies wiederum könnte die Ausbildung anderer Cu_2O_2 -Spezies begünstigen.^[244]

Die Generierung der aktiven Zwischenstufe kann UV/Vis-spektroskopisch verfolgt werden, da diese eine intensive charakteristische Absorptionsbande zwischen 340 nm und 380 nm ($\epsilon \sim 18000\text{-}25000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)^[4] aufweist, die aus einem in-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergang (CT-Übergang) resultiert und einer weiteren, weniger ausgeprägten Absorptionsbande im Bereich von 510-550 nm ($\epsilon \sim 1000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)^[4], welche einem out-of-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Peroxo zu Kupfer(II) Charge-Transfer-Übergang zugeordnet werden kann.^[10, 11]

Die in dieser Arbeit untersuchten Modellsysteme der Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Komplexe (CuLoL1-3) ergaben ausschließlich einen stöchiometrischen Umsatz des Monophenols 2,4-DTBP-H. Eine Hypothese für diese Beobachtung ist, dass diese Systeme möglicherweise nicht in der Lage sind das entsprechende Peroxo-Intermediat in ausreichender Konzentration zu generieren. Zudem ist es möglich, dass der $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-Dikupfer(II)-Komplex bei den Oxazolin-basierten Komplexsystemen nicht die bevorzugte Cu₂O₂-Spezies ist, sondern wie oben beschrieben, mit einer anderen Cu₂O₂-Spezies in Konkurrenz steht.

Um die Bildung der jeweiligen Peroxo-Intermediate der synthetisierten Komplexe zu detektieren, wurde unter anaeroben Bedingungen sowohl der jeweilige Kupfer(I)-Komplex als auch das entsprechende entgaste und getrocknete Lösungsmittel in zwei separate Kolben überführt. Anschließend wurden beide Kolben auf 0 °C gekühlt. Gleichzeitig wurde die 1 cm Messküvette mit N₂-Gas gespült und auf ca. -85 °C gekühlt. Das vorgekühlte Lösungsmittel wurde mit Hilfe von entgasten Spritzen zu dem Kupfer(I)-Komplex hinzugefügt, so dass jedes Mal eine 3 mM Lösung des entsprechenden Kupfer(I)-Komplexes resultierte, welche sofort in die ebenfalls anaerobe Atmosphäre der Küvette injiziert wurde. Die erste Messung erfolgte vor dem Einleiten von molekularem Sauerstoff, damit sichergestellt werden konnte, dass der Kupfer(I)-Komplex durch das mehrfache Umfüllen nicht durch Luftsauerstoff oxidiert worden ist. In diesem Fall würde eine breite d-d-Bande des Kupfer(II)-Komplexes bei ca. 600 nm im UV/Vis-Spektrum sichtbar werden. Nachdem diese Überprüfung stattgefunden hat, wurde für 3-5 min Sauerstoff eingeleitet und anschließend eine Messung durchgeführt. Dieses Vorgehen wurde so lange wiederholt, bis kein weiterer Anstieg der charakteristischen Absorptionsbande des Peroxo-Intermediates sichtbar war. Die im Folgenden aufgeführten Spektren sind Differenzspektren, d. h. dass das zuvor gemessene Spektrum des Kupfer(I)-Komplexes von

den gemessenen Peroxo-Spektren subtrahiert wurde. Das hat den Vorteil, dass der $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergang nicht durch den Kupfer(I)-Komplex überlagert wird, wenn keine 100 %-ige Umsetzung zu dem Peroxo-Intermediat stattfindet.

Die erste Messung wurde mit CuLoL1 in Aceton durchgeführt. Schon nach 5 min konnte eine intensive Absorptionsbande bei 357 nm beobachtet werden (Abbildung 10.52). Diese stieg nach erneuter Injektion von Sauerstoff weiter an. Zudem bildete sich eine breite, weniger intensive Absorptionsbande bei 600 nm aus. Diese Bande resultiert wahrscheinlich aus einem d-d-Übergang von Cu(II)LoL1, welcher als Nebenprodukt durch die Oxidation mittels Sauerstoff gebildet wurde. Der schwache out-of-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Peroxo zu Kupfer(II) Charge-Transfer-Übergang bei 510-550 nm wird vermutlich in diesem Fall durch die sehr intensive d-d-Bande überlagert.

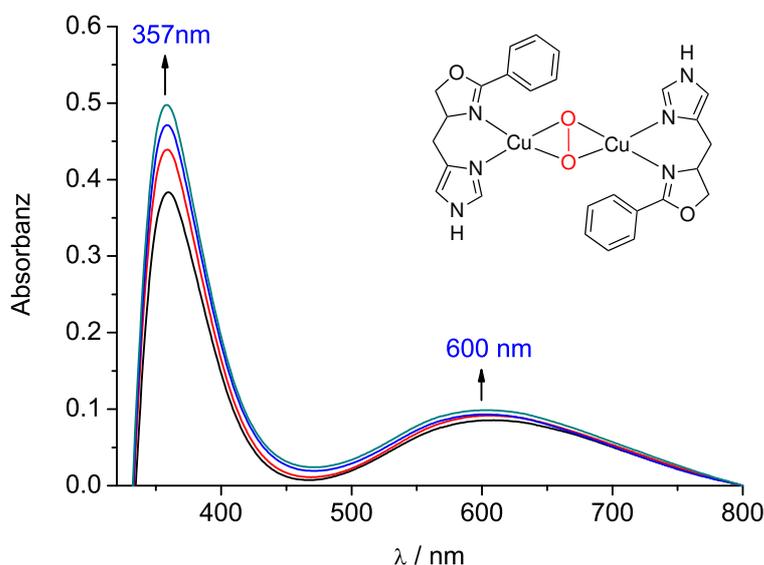


Abbildung 10.52: UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Aceton bei $-85\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Nach ungefähr 15 min fand kein weiterer Anstieg der Bande bei 357 nm mehr statt, woraufhin die Lösung langsam auf Raumtemperatur aufgewärmt wurde. Wie erwartet, konnte ein deutlicher Intensitätsverlust des raumtemperaturlabilen $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexes bei 360 nm beobachtet werden (Abbildung 10.53).

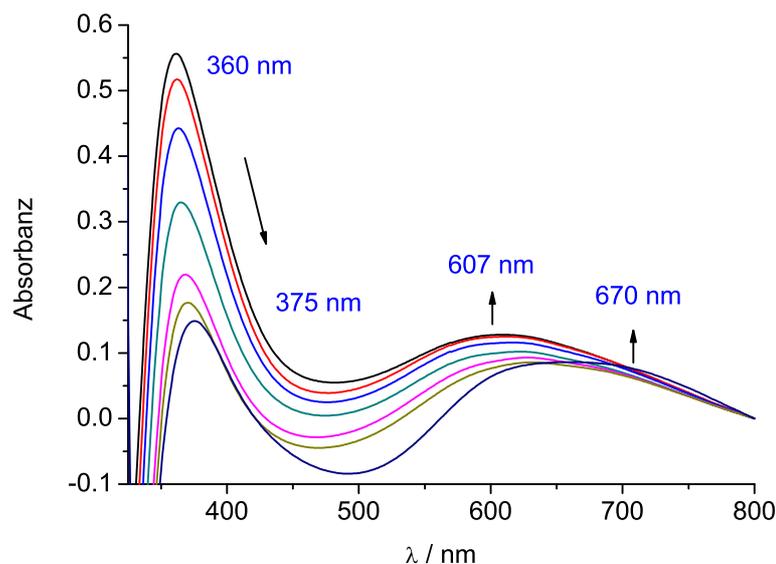


Abbildung 10.53: Gezeigt sind die UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Aceton während des Aufwärmens der Lösung auf 0°C (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Zeitgleich verschob sich die Lage der intensiven CT-Bande zu 375 nm und die der d-d-Bande zu 670 nm . Es ist weiterhin zu erkennen, dass ein deutlich steilerer Anstieg der Bande bei 670 nm durch das Erwärmen resultiert, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass die zum $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplex zugehörige Bande im Bereich von $510\text{--}550\text{ nm}$ ebenfalls abgenommen hat.

Im Vergleich zu literaturbekannten Peroxo-Intermediaten, ist die Intensität der Absorptionsbande sehr gering.^[164, 171, 247] Wird die Stoffmenge des binuklearen Komplexes mit einem durchschnittlichen Extinktionskoeffizienten von $\epsilon = 20\,000\text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ berechnet, dann ergibt sich eine 2 %-ige Umsetzung des mononuklearen Kupfer(I)-Komplexes in den $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplex.

Da die katalytische Oxygenierung der Monophenole immer in Dichlormethan stattgefunden hat, wurde zusätzlich ein Versuch unternommen, das Peroxo-Intermediat in Dichlormethan zu generieren. Die Ausbildung des Peroxokomplexes dauerte in Dichlormethan länger als in Aceton. Erst nach ca. 1 h wurde ein vergleichbares UV/Vis-Spektrum mit einer maximalen Absorptionsbande bei 340 nm erhalten (Abbildung 10.54). Die Lage des Maximums ist, im Vergleich zu dem in Aceton gemessenen Peroxo-Spektrum, zu niedriger Energie verschoben. Die Bande bei 580 nm kann dem out-of-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_x^2 - y^2$ Peroxo zu Kupfer(II) Charge-Transfer-Übergang zugeordnet werden. Die Umsetzung beträgt auch in Dichlormethan ca. 2 %.

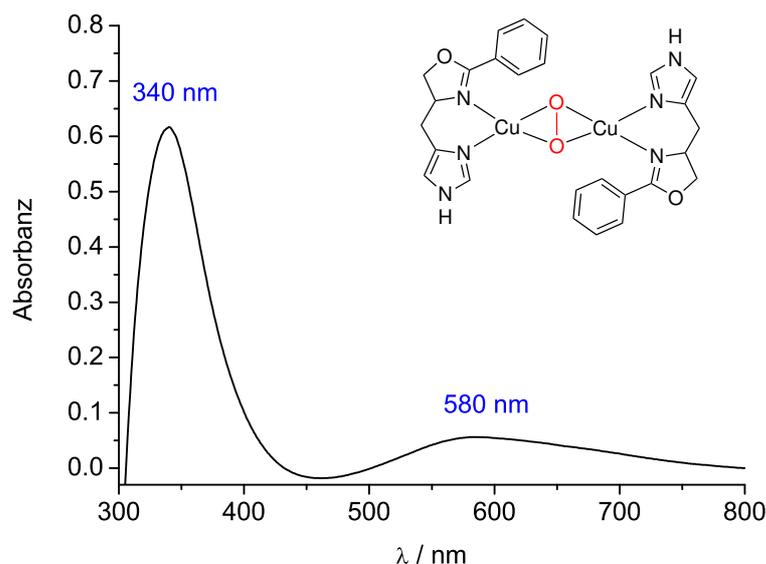


Abbildung 10.54: UV/Vis-Absorptionsspektrum von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan bei $-85\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Auch für CuLol2 wurde nach oben genannter Prozedur das entsprechende Peroxo-Intermediat in Dichlormethan generiert. Der in-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergang wurde bei 340 nm gefunden und zeigt eine gute Übereinstimmung mit der Messung des $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan (Abbildung 10.55). Der out-of-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Peroxo zu Kupfer(II) Charge-Transfer Übergang ist auch bei diesem Beispiel nicht eindeutig zu erkennen, da auch hier eine breite d-d-Bande bei 620 nm beobachtet wurde.

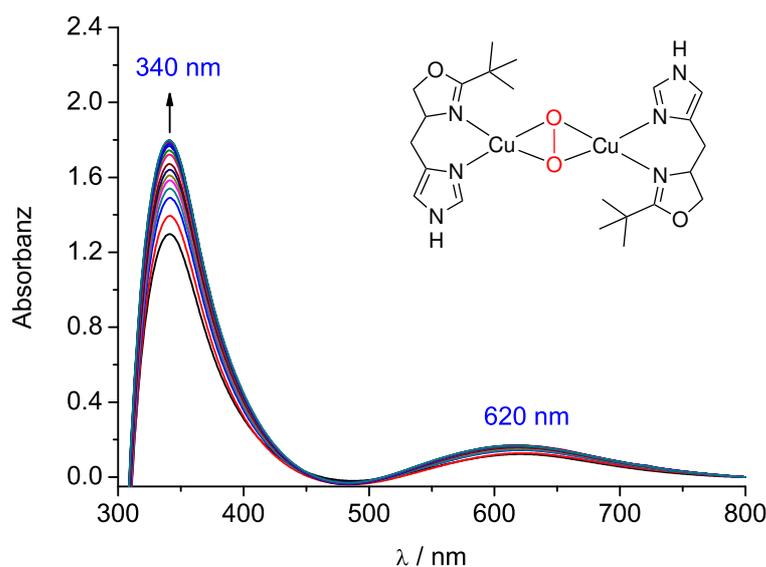


Abbildung 10.55: UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol2})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan bei $-85\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Besonders hervorzuheben bei der Erzeugung von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL2})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan ist die sehr langsam und kontinuierlich ansteigende Intensität der Peroxobande, was eine zeitabhängige Auftragung der Absorbanz bei 340 nm ermöglichte (Abbildung 10.56). Diese Auftragung verdeutlicht, dass das Maximum der Absorbanz bei 340 nm nach ca. 30 min erreicht wurde und anschließend eine konstante Stabilität des $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL2})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexes über mindestens eine Stunde bei $-85\text{ }^\circ\text{C}$ resultiert. Die Ausbeute des Peroxokomplexes in Dichlormethan war mit ca. 6 % gegenüber dem $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexe leicht erhöht. Die Detektion von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL2})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Aceton gelang hingegen nicht.

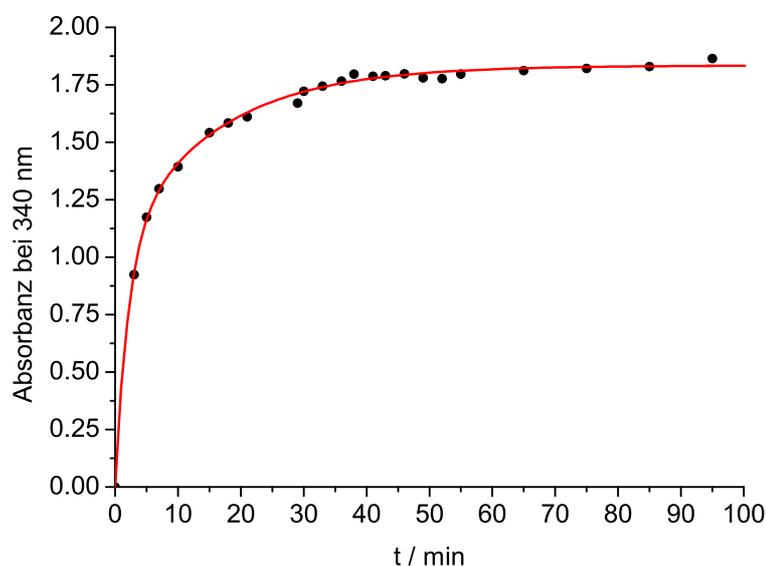


Abbildung 10.56: Zeitlicher Verlauf der Bildung von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL2})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ bei 340 nm.

Analog zu CuLoL1 und CuLoL2 konnte auch für CuLoL3 ein aussagekräftiges Peroxo-Spektrum erhalten werden (Abbildung 10.57). Der in-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergang wurde in Aceton bei 335 nm gefunden. Die Besonderheit dieses gemessenen Spektrums besteht darin, dass für den $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL3})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplex der out-of-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Peroxo zu Kupfer(II) Charge-Transfer-Übergang erstmals deutlich bei 510 nm zu erkennen ist. Ferner befindet sich, ebenso wie bei den oben genannten Beispielen, eine d-d-Bande bei 620 nm. Das Einleiten von molekularem Sauerstoff in die Kupfer(I)-Lösung für 5 min ergab direkt die maximale Ausbeute von ca. 8 % für den $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL3})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplex. Weiteres Injizieren von Sauerstoff führte zu keinem weiteren Anstieg der Intensität bei 335 nm oder 510 nm. Langsames Erwärmen führte wie erwartet zu einer zeitgleichen Abnahme der Absorptionsbanden bei 335 nm und 510 nm

und damit zum Zerfall des Peroxo-Intermediates. Die Detektion von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL3})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan war nicht erfolgreich.

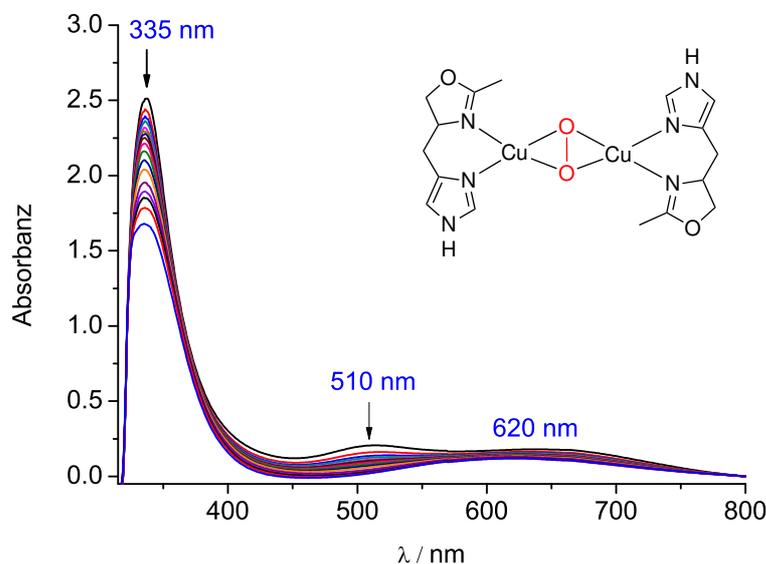


Abbildung 10.57: UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL3})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Aceton bei $-85\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Es fällt auf, dass sich die Absorptionsmaxima der in-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergänge der $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL2-3})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexe bei sehr niedrigen Wellenlängen befinden. Diese Verschiebung ist in der Literatur auch für Bis(oxazolin)-Systeme (BOX-Liganden) bekannt.^[247]

Somit konnte, trotz fehlender katalytischer Tyrosinase-Aktivität für CuLoL1-3 , die Ausbildung der jeweiligen Peroxo-Intermediate nachgewiesen werden, wodurch die erste Vermutung widerlegt werden konnte, dass diese Modellsysteme keine Peroxokomplexe während der Oxygenierung ausbilden können. Des Weiteren kann die Hypothese verworfen werden, dass bei der Oxygenierung die Ausbildung einer anderen Cu_2O_2 -Spezies bevorzugt ist und damit den limitierenden Faktor für die Katalyse darstellt.

Für die katalytisch aktiven Modellsysteme CuBIMZ und CuLimz1 wurden ebenfalls Tieftemperatur-oxygenierungen durchgeführt. Die UV/Vis-Spektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{BIMZ})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Aceton weisen ein Absorptionsmaxima bei 333 nm auf und eine weitere Bande bei 560 nm (Abbildung 10.58). Während der Aufwärmphase findet ein Abfall der Intensität bei 333 nm statt und eine Verschiebung der Bande von 560 nm nach 607 nm. Die Ausbeute des $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{BIMZ})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexes beträgt ca. 4 %.

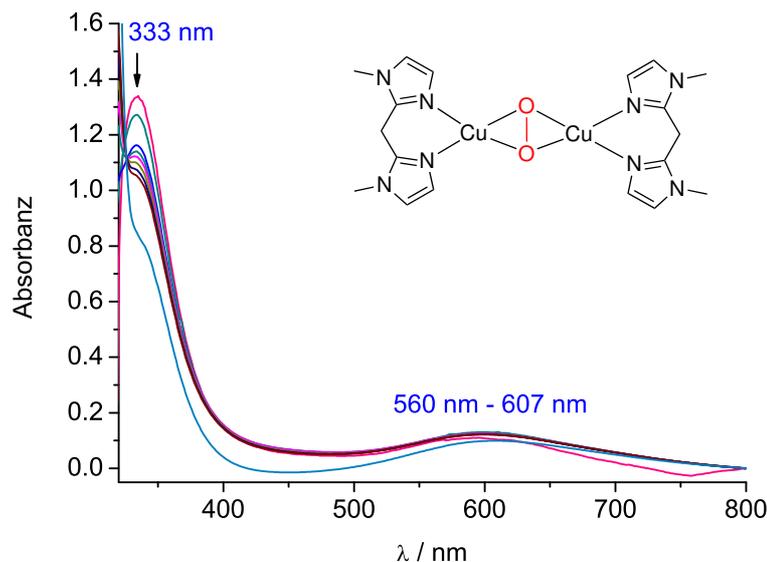


Abbildung 10.58: UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{BIMZ})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Aceton bei -85 °C bis 20 °C (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Da für Lösungen in Aceton allgemein gilt, dass Messungen erst ab $\sim 330\text{ nm}$ aussagekräftige Ergebnisse liefern und der in-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Übergang in diesem Fall im gleichen Bereich liegt, stellt Aceton kein geeignetes Lösungsmittel für die Detektion von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{BIMZ})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ dar. Deshalb wurde das Experiment in Dichlormethan wiederholt, da hier Absorptionsbanden schon ab $\sim 220\text{ nm}$ beobachtet werden können. Die in-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Bande bei 333 nm ist bei dieser Variation deutlich besser zu erkennen (Abbildung 10.59).

Die in Abbildung 10.59 dargestellten Spektren sind im Vergleich zu den oben gezeigten Spektren keine Differenzspektren. Die Ausbildung der in-plane $\pi_\sigma^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Bande ist in diesem Fall viel definierter, so dass eine Subtraktion des Kupfer(I)-Komplexes nicht erforderlich ist. Die Ausbeute des $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{BIMZ})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexes erhöhte sich auf ca. 8 %.

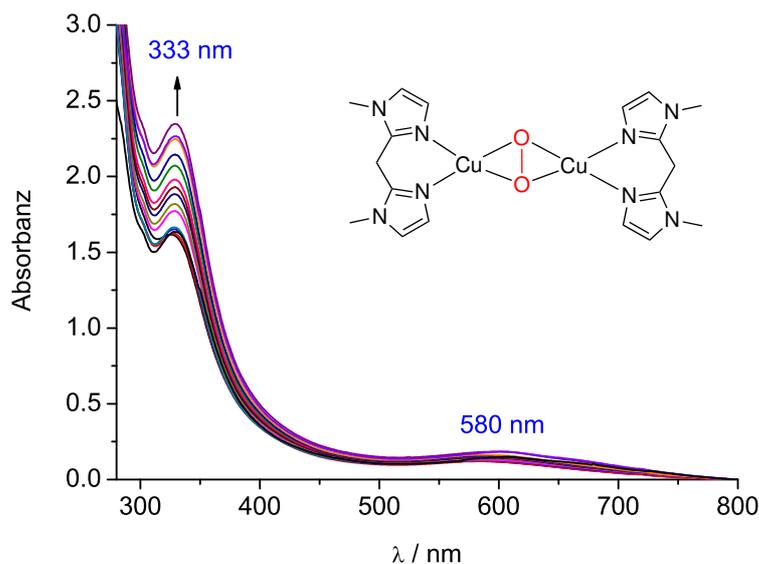


Abbildung 10.59: UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{BIMZ})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan bei $-85\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Nachdem für alle vier untersuchten Kupfer(I)-Komplexe (**CuLoL1-3** und **CuBIMZ**) der Nachweis der jeweiligen Peroxo-Spezies bei tiefen Temperaturen erfolgreich war, sollte die etablierte Methode auch für **CuLimz1** angewendet werden. Es stellte sich jedoch heraus, dass es nicht möglich war, den dazugehörigen Peroxokomplex UV/Vis-spektroskopisch nachzuweisen. Es wurde eine Vielzahl an Versuchen mit unterschiedlichen Konzentrationen in dem Bereich von 1-5 mM durchgeführt. Zudem wurde das Lösungsmittel variiert, da sich wie oben beschrieben gezeigt hat, dass das eingesetzte Lösungsmittel einen erheblichen Einfluss auf die Detektion hat. Neben Dichlormethan und Aceton wurde auch Tetrahydrofuran verwendet, da dessen Einsatz eine Messung bei Temperaturen von bis zu $-100\text{ }^\circ\text{C}$ ermöglicht. Allerdings war auch unter diesen Bedingungen die Detektion von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Limz1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ erfolglos. Langsames Erwärmen in 3-5 $^\circ\text{C}$ Schritten und wiederholtes Einleiten von Sauerstoff führten ebenfalls nicht zum gewünschten Ergebnis. In vorangegangenen Publikationen wurde eine Korrelation zwischen der hohen Stabilität des Peroxokomplexes und einer langsamen katalytischen Aktivität des eingesetzten Kupfer(I)-Komplexes diskutiert.^[168] So wurde empirisch bewiesen, dass es umso schwieriger wird das Peroxo-Intermediat zu detektieren, je höher die Umsatzrate des eingesetzten Tyrosinase Modellsystems ist. In dieser Arbeit weist **CuLimz1** mit 16 TON, bezüglich des Substrates 2,4-DTBP-H, die höchste katalytische Aktivität auf und unterstützt damit die Hypothese, dass das Peroxo-Intermediat

[Cu(II)₂(L_{imz}1)₂(O₂)](PF₆)₂ selbst bei Temperaturen von bis zu -100 °C keine ausreichende Stabilität für eine Detektion mit der hier angewendeten Methode besitzt.

10.4 Reversibilitätsmessungen der $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Einheit}$

Mittels UV/Vis-Spektroskopie bei tiefen Temperaturen konnte gezeigt werden, dass die Oxazolin-basierten Modellsysteme CuL_{OL}1-3 und CuBIMZ, stabile side-on verbrückte $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Komplexe}$ ausbilden. Die Klasse der Kupfer Typ 3 Enzyme, die ein solches Peroxo-Intermediat ausbilden, beinhaltet neben der Tyrosinase und der Catechol Oxidase auch das Hämocyanin. Dieses Enzym ist für den Sauerstofftransport in Mollusken und Arthropoden verantwortlich, was durch eine reversible Bindung von Disauerstoff in der side-on verbrückten $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Geometrie}$ ermöglicht wird.^[3] Analog zu Hämocyanin sollte die Fähigkeit untersucht werden, Disauerstoff reversibel zu binden, um somit einen tieferen Einblick in die Stabilität der $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-Einheit}$ zu erhalten (Abbildung 10.60).

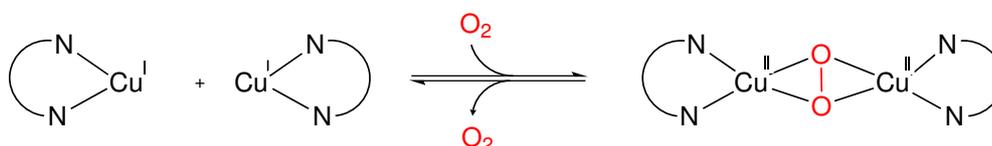
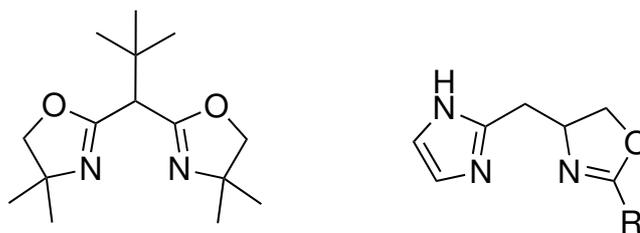


Abbildung 10.60: Schematische Darstellung der reversiblen Bildung der $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-dikupfer(II)-Einheit}$.

In vorangegangenen Studien von MEYER *et al.*^[247] konnte durch den Einsatz eines Kupfer(I)-Bis(oxazolin)-Komplexes ($[(^{\text{tBu,H}}\text{BOX-Me}_2)\text{Cu}(\text{MeCN})]\text{PF}_6$) eine reversible Bindung von O₂ gezeigt werden. Der beschriebene Kupfer(I)-Komplex besitzt zwei Oxazolinringe, die in 2-Position über eine Methyl-Einheit miteinander verknüpft sind (Abbildung 10.61). Zudem wurde ein Proton der Methyl-Einheit mit einer *tert*-Butylgruppe substituiert, was in diesem Fall zu einer erhöhten Stabilität des Peroxokomplexes führt. Der Kupfer(I)-Bis(oxazolin)-Komplex bindet analog zu den hier vorgestellten Oxazolin-basierten Modellsystemen (CuL_{OL}1-3) ein Acetonitrilmolekül als Co-Ligand.



R = Phenyl, ^tButyl, Methyl

Abbildung 10.61: Strukturvergleich von ^tBu,^HBOX-Me₂ (links) entwickelt von MEYER *et al.*^[247] und den Liganden LoL1-3 (rechts).

In Anlehnung an die Vorgehensweise von MEYER *et al.*, wurde die Reversibilität der Peroxo-Einheit untersucht. Da die Kupfer(I)-Komplexe CuLoL1-3 denen von MEYER *et al.* ähneln und untereinander kaum Unterschiede bei der Bildung der jeweiligen Peroxo-Intermediate zeigten, wurden die nachfolgenden Untersuchungen mit CuLoL1 durchgeführt, da LoL1 synthetisch leichter zugänglich ist als CuLoL2-3

Unter anaeroben Bedingungen wurde eine 3.5 mM Lösung des CuLoL1-Komplexes in 25 mL Dichlormethan hergestellt und mit einer Tauchsonde für UV/Vis-Spektroskopie der Schichtdicke 1 cm versehen. Die Komplex-Lösung wurde mit einem Aceton/Trockeneis-Gemisch auf -78 °C gekühlt und anschließend molekularer Sauerstoff eingeleitet. Die Lösung färbte sich schlagartig violett. Allerdings fand nach wenigen Sekunden ein weiterer Farbumschlag von violett über grau nach blau statt. Aufgrund der schnellen Umwandlung ist es nicht gelungen, das Peroxo-Intermediat UV/Vis-spektroskopisch zu detektieren. Da allerdings die violette Färbung ein ganz charakteristisches Merkmal für die Entstehung des Peroxo-Intermediates ist, wurde die Lösung bei einem weiteren Versuchsansatz wie oben beschrieben auf -78 °C gekühlt und ca. 30 Sekunden O₂ in die Lösung injiziert, bis eine Violett färbung sichtbar war. Direkt im Anschluss wurde an den Kolben Vakuum angelegt und 5 min bei -78 °C gerührt. Auch hier wurde eine Farbänderung der Reaktionslösung von violett über grau nach blau beobachtet. Das Ziel bestand darin, dass der [Cu(II)₂(LoL1)₂(O₂)](PF₆)₂-Komplex durch Anlegen von Vakuum O₂ abspaltet und der Kupfer(I)-Komplex (CuLoL1) zurückgewonnen wird, was gleichzeitig die Violett färbung der Lösung, die durch den CT-Übergang des Peroxo-Intermediates resultiert, aufhebt. Wiederholtes Einleiten von Sauerstoff in die blaue Lösung führte jedoch nicht zu einer erneuten Violett färbung der Lösung. UV/Vis-spektroskopisch konnte ebenfalls keine charakteristische Bande beobachtet werden. Demnach ist davon auszugehen, dass es zwar

kurzfristig möglich ist, das Peroxo-Intermediat zu erzeugen, jedoch deuten die Beobachtungen darauf hin, dass eine Temperatur von -78 °C nicht ausreicht, um das Peroxo-Intermediat stabil zu erzeugen, was wiederum eine Voraussetzung für die gezielte reversible Bildung der Peroxo-Einheit darstellt.

Aus der resultierenden blauen Lösung des zweiten Ansatzes kristallisierten nach ca. drei Wochen türkis Kristalle aus, deren Qualität für eine Einkristallstrukturanalyse geeignet war. Der erhaltene homoleptische mononukleare Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu(II)(LOL1)}_2](\text{PF}_6)_2$ kristallisiert in der orthorhombischen Raumgruppe $P2_12_12_1$ mit vier Formeleinheiten pro Elementarzelle (Abbildung 10.62). Ausgewählte Bindungswinkel ($^\circ$) und Bindungslängen (Å) sind in Tabelle 10.1 aufgeführt. Eine detaillierte Beschreibung der Strukturverfeinerung und weitere kristallographische Daten befinden sich in Tabelle 10.2 sowie im Anhang (Tabelle 13.2, Tabelle 13.3, Tabelle 13.4). Das Kupfer(II)-Kation liegt vierfach koordiniert vor. Die beiden Stickstoffdonoren der Oxazolin-Einheit und des Imidazolrings von **LOL1** koordinieren hierbei an das Metallzentrum. Daraus ergibt sich eine stark verzerrte quadratisch-planare Geometrie, welche unter anderem aus der starken Verzerrung innerhalb der jeweiligen Liganden resultiert. Die Cu-N-Bindungslängen befinden sich im Bereich zwischen $1.958(4)\text{ Å}$ und $1.996(4)\text{ Å}$ und liegen damit in einem typischen Bereich für bekannte homoleptische Kupfer(II)-Komplexe.^[248] Die Bindungswinkel liegen im Bereich von $91.12(18)^\circ$ und $159.4(2)^\circ$. Einer der beiden unabhängigen PF_6^- -Anionen weist eine Fehlordnung auf.

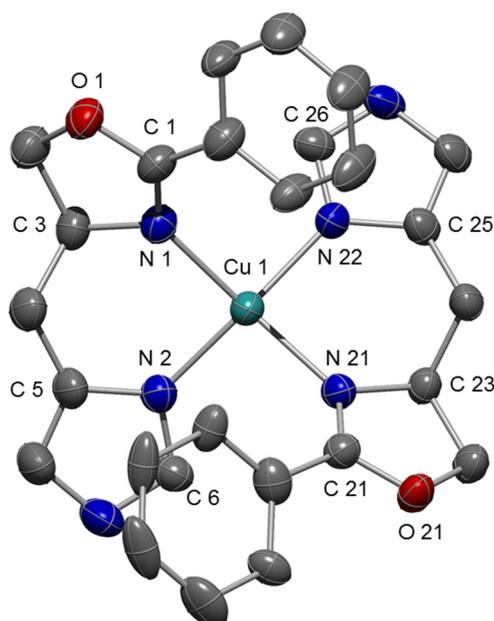


Abbildung 10.62: Kristallstruktur von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})_2](\text{PF}_6)_2$. Die Protonen und die zwei PF_6^- -Gegenionen sind für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau; N: blau; O: rot; Cu: türkis.

Tabelle 10.1: Ausgewählte Bindungswinkel ($^\circ$) und Bindungslängen (\AA) von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})_2](\text{PF}_6)_2$.

Cu(1)-N(22)	1.958(4)	Cu(1)-N(21)	1.994(4)
Cu(1)-N(2)	1.961(4)	Cu(1)-N(1)	1.996(4)
N(22)-Cu(1)-N(2)	159.4(2)	N(22)-Cu(1)-N(1)	94.99(17)
N(22)-Cu(1)-N(21)	91.12(18)	N(2)-Cu(1)-N(1)	91.49(16)
N(2)-Cu(1)-N(21)	92.94(18)	N(21)-Cu(1)-N(1)	150.19(19)
C(1)-N(1)-Cu(1)	132.1(3)	C(21)-N(21)-Cu(1)	133.8(4)
C(3)-N(1)-Cu(1)	119.9(3)	C(23)-N(21)-Cu(1)	117.9(4)
C(6)-N(2)-Cu(1)	124.4(3)	C(26)-N(22)-Cu(1)	125.0(3)
C(5)-N(2)-Cu(1)	128.9(3)	C(25)-N(22)-Cu(1)	129.1(4)

Tabelle 10.2: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von [Cu(II)(Lol.1)₂](PF₆)₂.

Identification code	felix118	
Empirical formula	C ₂₆ H ₂₆ CuF ₁₂ N ₆ O ₂ P ₂	
Formula weight	808.01	
Temperature	200(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 12.9502(6) Å	α = 90°.
	b = 15.2187(5) Å	β = 90°.
	c = 16.7816(6) Å	γ = 90°.
Volume	3307.4(2) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.623 mg/m ³	
Absorption coefficient	0.861 mm ⁻¹	
F(000)	1628	
Crystal size	0.16 x 0.11 x 0.09 mm ³	
Theta range for data collection	1.986 to 26.005°.	
Index ranges	-15 ≤ h ≤ 13, -18 ≤ k ≤ 14, -20 ≤ l ≤ 20	
Reflections collected	13926	
Independent reflections	6254 [R(int) = 0.0513]	
Completeness to theta = 25.242°	99.2 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	6254 / 45 / 496	
Goodness-of-fit on F²	1.041	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0419, wR ₂ = 0.0961	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0540, wR ₂ = 0.1020	
Absolute structure parameter	0.013(10)	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.460 and -0.273 e.Å ⁻³	

Comments:

All non-hydrogen atoms were refined anisotropic. The H atoms were positioned with idealized geometry and refined isotropic with $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}(\text{C})$ using a riding model. A numerical absorption correction was applied (Tmin/max: 0.8211/0.8927). The absolute structure was determined and is in agreement with the selected setting (Flack x-parameter: -0.001(18)). One of the two crystallographically independent PF₆ anions is disordered in two orientations and was refined using restraints (SAME).

Die Kristalle wurden in THF gelöst und UV/Vis-spektroskopisch vermessen. Das Spektrum zeigt eine intensive Absorptionsbande bei 325 nm und eine Bande, die sich aus zwei einzelnen breiten Banden mit geringer Intensität zusammensetzt. Diese können d-d-Übergängen des Kupfer(II)-Kations zugeordnet werden.

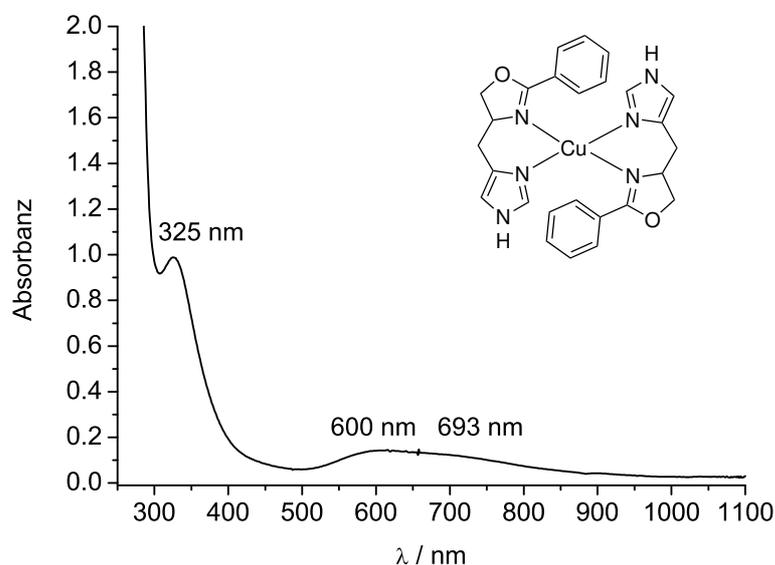


Abbildung 10.63: UV/Vis-Absorptionsspektrum von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})_2](\text{PF}_6)_2$.

Da es nicht möglich war, den $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplex bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ in ausreichender Stabilität zu generieren, wurde die Messung wie in Abschnitt 10.3 in einem CryoVac Konti Kryostat durchgeführt. Der Versuchsaufbau lässt das Anlegen von Vakuum an die Küvette nicht zu. Deshalb sollte durch Einleiten von Stickstoff in die Reaktionslösung der überschüssige Sauerstoff entfernt und ggf. durch leichtes Erwärmen der Komplexlösung die Rückreaktion zu CuLoL1 und O_2 erzielt werden. Durch erneutes Einleiten von Sauerstoff in die Lösung sollte der $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplex reproduziert werden. Hierbei bestand ein großes Interesse, die quantitative Ausbeute über mehrere Zyklen zu untersuchen.

Für den Versuch wurde eine 3 mM Lösung von CuLoL1 in Dichlormethan hergestellt und auf ca. $-90\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurde für jeweils 3-5 min Sauerstoff eingeleitet. Nach ungefähr einer Stunde fand kein weiterer Anstieg der in-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Bande bei 357 nm mehr statt (Abbildung 10.64).

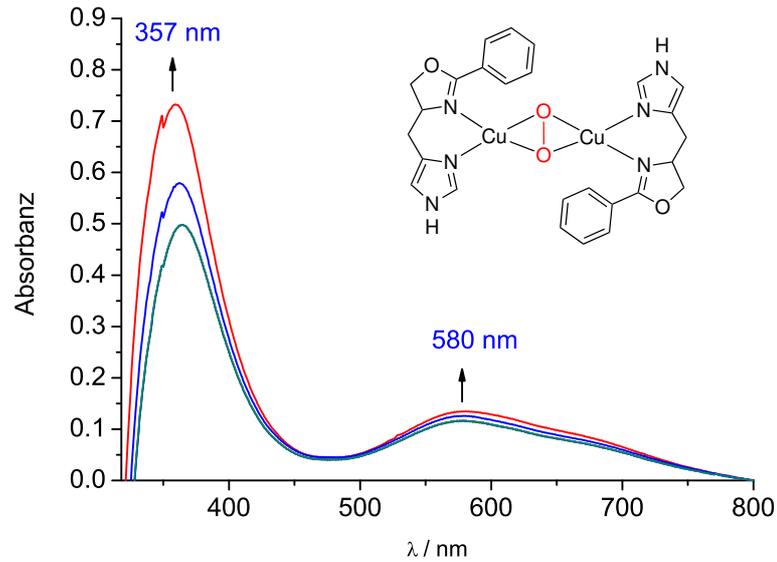


Abbildung 10.64: UV/Vis-Absorptionsspektren von $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan bei $-90\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Um den überschüssigen Sauerstoff aus der Lösung zu entfernen, wurde für 10 min Stickstoff in die Komplexlösung geleitet, wobei sich die Lösung um $3\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmte. Die anschließende Messung zeigte keine Peroxo-Spezies mehr, sondern eine Schulter bei 325 nm und eine breite Doppelbande bei $600\text{--}700\text{ nm}$ (Abbildung 10.65).

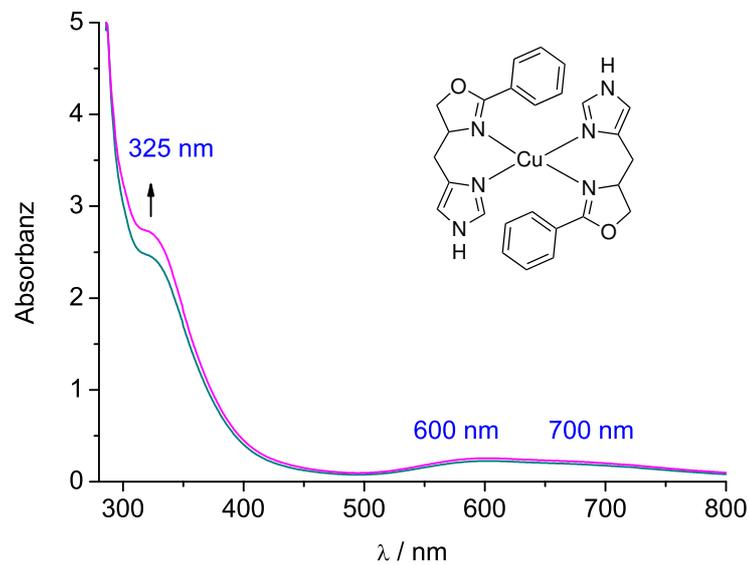


Abbildung 10.65: Erhaltenes UV/Vis-Absorptionsspektrum nach Einleiten von Stickstoff in eine Lösung bestehend aus $[\text{Cu}(\text{II})_2(\text{Lol1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ in Dichlormethan bei $-87\text{ }^\circ\text{C}$ (Schichtdicke: $l = 1\text{ cm}$).

Die Absorptionsbanden weisen die gleiche Lage auf, wie die des homoleptischen Cu(II)-Komplexes (Abbildung 10.63), so dass die Eliminierung von Sauerstoff nicht wie gewünscht 2 Äq. des ursprünglichen Kupfer(I)-Komplexes lieferte, sondern vermutlich den homoleptischen Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu(II)(LoL1)}_2](\text{PF}_6)_2$.

Wiederholtes Einleiten von Sauerstoff bei $-90\text{ }^\circ\text{C}$ zeigte keine erneute Ausbildung des Peroxokomplexes, sondern einen weiteren Anstieg der Absorptionsbande bei 325 nm . Anschließendes Erwärmen auf Raumtemperatur führte zu keiner Veränderung des UV/Vis-Spektrums, was neben der Blaufärbung der Lösung ebenfalls für die Bildung des stabilen mononuklearen $[\text{Cu(II)(LoL1)}_2](\text{PF}_6)_2$ -Komplexes spricht.

Ogleich auch in diesem Experiment die Bildung des Peroxo-Intermediates erfolgreich war und ein Zerfall durch Einleiten von Stickstoff bzw. das Anlegen von Vakuum hervorgerufen werden konnte, war es nicht möglich, die Peroxo-Einheit reversibel zu generieren. Nach erfolgreicher Eliminierung von Disauerstoff wurde nicht der Kupfer(I)-Komplex zurückgewonnen, sondern der raumtemperaturstabile homoleptische $[\text{Cu(II)(LoL1)}_2](\text{PF}_6)_2$ -Komplex gebildet, was eine reversible Bildung des $[\text{Cu(II)}_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ -Komplexes nicht ermöglichte (Abbildung 10.66).

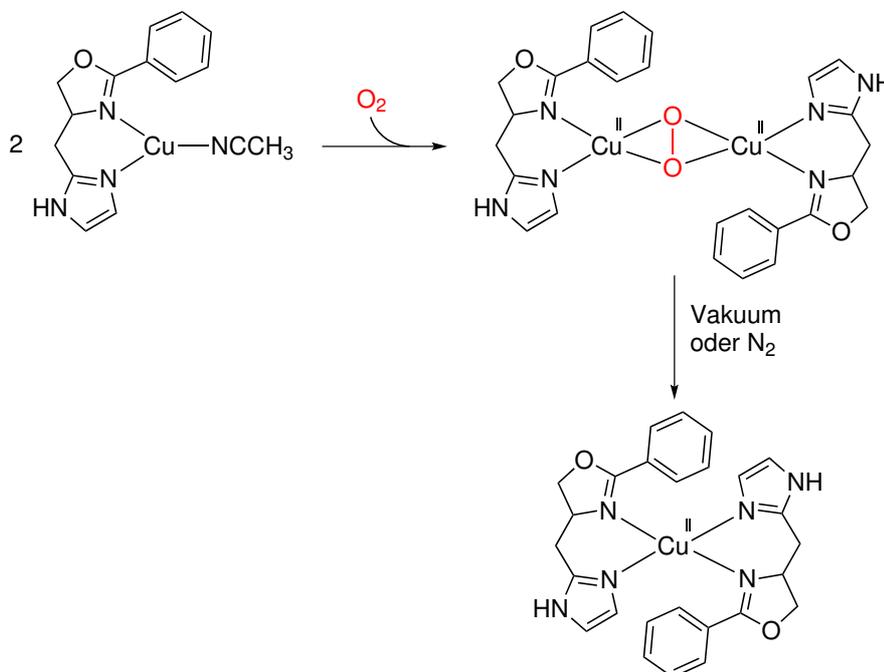


Abbildung 10.66: Übersicht der Bildung von $[\text{Cu(II)}_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ und die anschließende Überführung in den $[\text{Cu(II)(LoL1)}_2](\text{PF}_6)_2$ -Komplex.

Die erhaltenen Ergebnisse liefern einen essentiellen Beitrag bezogen auf die Lebensdauer des eingesetzten Katalysators. Die hohe Tendenz einen mononuklearen Kupfer(II)-Komplex mit zwei koordinierenden Liganden auszubilden, lässt die Vermutung zu, dass sich auch während der Oxygenierung ein Teil des aktiven Katalysators in den stabilen inaktiven $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LX})_2](\text{PF}_6)_2$ -Komplex ($\text{LX} = \text{LOL1-3}$, Limz1 , BIMZ) umwandelt. Da dieser nicht mehr an der Katalyse teilnehmen kann, verringert sich somit der Anteil des aktiven Katalysators im Laufe der Katalyse und führt folglich zum Abbruch der Reaktion. Dies könnte u. a. ein Grund für die geringe Lebensdauer für die in dieser Arbeit entwickelten und untersuchten Katalysatoren sein.

10.5 Katalytische Oxygenierung von 2,4-Di-*tert*-butylphenol mittels CuBIMZ bei tiefen Temperaturen

Bis hierhin ist es erfolgreich gelungen Katalysatoren zu synthetisieren, die katalytisch oder stöchiometrisch *ortho*-Chinone bilden. Im Anschluss wurde mittels stöchiometrischer Oxygenierung und Tieftemperaturmessungen versucht, die einzelnen Zwischenstufen des reaktiven Zyklus zu detektieren. Obgleich eine separate Darstellung der Peroxo-Intermediate geglückt ist, stellt sich dennoch die Frage, ob eine Oxygenierung ausgehend von dieser Zwischenstufe möglich ist. Von allen in dieser Arbeit synthetisierten Modellkomplexen stellt CuBIMZ den einzigen Kupferkomplex dar, der für diese Untersuchung geeignet ist, da er zum einen katalytisch aktiv ist und zum anderen ein Peroxo-Intermediat bei tiefen Temperaturen ausbildet. CuLimz1 besitzt zwar eine höhere katalytische Effizienz, allerdings macht die Tatsache, dass kein Peroxo-Intermediat für dieses Modellsystem zu detektieren war, das System für diese Messungen ebenso unbrauchbar, wie die Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Komplexe, die nur eine stöchiometrische Oxygenierung zeigen.

Ausgehend von dem Peroxo-Intermediat $[\text{Cu}_2(\text{O}_2)(\text{BIMZ})_2](\text{PF}_6)_2$, welches analog zu Abschnitt 10.3 bei -85 °C in Dichlormethan erzeugt wurde, wurden durch Zugabe von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin katalytische Bedingungen eingestellt. Die anschließenden Messungen wurden in einem Intervall von 10 min innerhalb der 1 h durchgeführt und zeigten keine Änderung des UV/Vis-Spektrums. Leider konnte eine

mögliche Abnahme der Intensität der in-plane $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{x^2-y^2}$ Charge-Transfer-Bande bei 333 nm nicht verfolgt werden, da das Monophenol, welches im Überschuss hinzugefügt wurde, in dem gleichen Bereich absorbiert wie das Peroxo-Intermediat. Somit sollte der Fokus auf der Ausbildung der Chinonbande bei 400 nm liegen. Auch erneutes Einleiten von Sauerstoff in die -85 °C kalte Reaktionslösung bewirkte keine Umsetzung zum gewünschten 3,5-DTBQ bei 400 nm. Da angenommen wurde, dass aufgrund der tiefen Temperatur die Reaktion kinetisch gehemmt ist, wurde die Lösung langsam über 2 h auf -30 °C erwärmt. Ab -40 °C wurde erstmals eine Schulter bei ca. 400 nm beobachtet, welche bei Erwärmen auf -30 °C weiter an Intensität gewann (Abbildung 10.67).

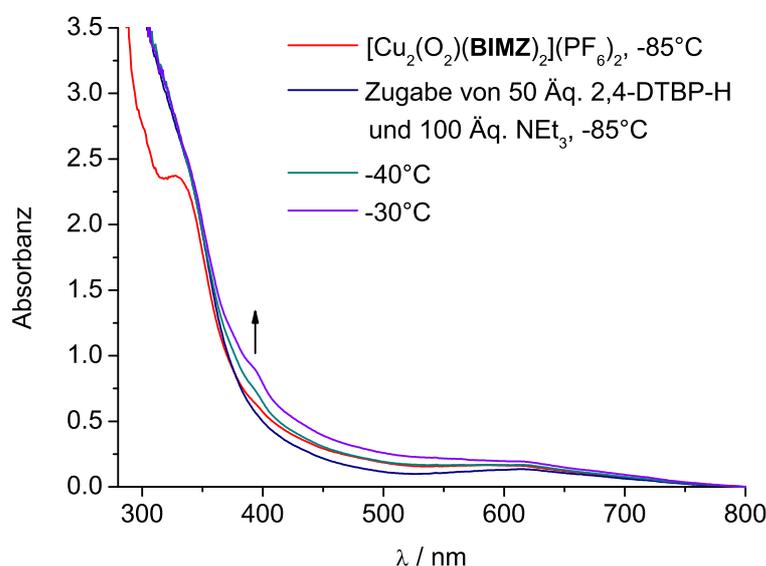


Abbildung 10.67: Oxygenierung ausgehend von $[\text{Cu}_2(\text{O}_2)(\text{BIMZ})_2](\text{PF}_6)_2$ (rot) bei -85 °C bis -30 °C .

Da die Umsatzrate zum Peroxo-Intermediat nur ca. 8 % beträgt, ist es nicht verwunderlich, dass die Ausprägung der Absorptionsbande sehr gering ist. Langsames Erwärmen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur führte allerdings erneut zu einer Veränderung des UV/Vis-Spektrums (Abbildung 10.68). Das Endspektrum beinhaltet eine Doppelbande bei 395 nm und 425 nm, eine breite Absorptionsbande bei 523 nm und zwei schwache Absorptionsbanden bei $\sim 620\text{ nm}$ sowie $\sim 700\text{ nm}$. Die Absorptionsbande bei 523 nm wurde auch bei den stöchiometrischen Oxygenierungen in Abbildung 10.50 gefunden und befindet sich damit in dem Bereich von Kupfer-Sauerstoff-Charge-Transfer-Übergängen.

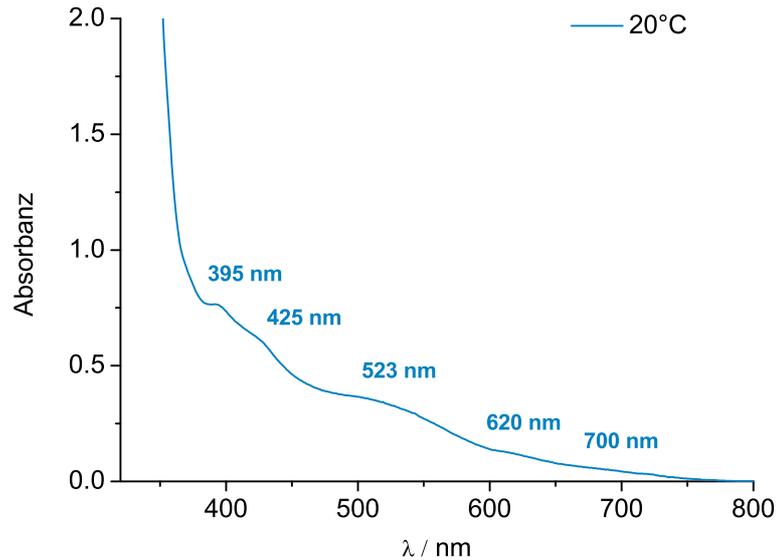


Abbildung 10.68: Endspektrum der Oxygenierung ausgehend von $[\text{Cu}_2(\text{O}_2)(\text{BIMZ})_2](\text{PF}_6)_2$ bei 20 °C.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Oxygenierung bei tiefen Temperaturen, ausgehend von dem Peroxo-Intermediat des CuBIMZ Modellsystems, einen Hinweis auf die Bildung von 3,5-DTBQ bei -30 °C liefert. Allerdings wird davon ausgegangen, dass sich bei weiterer Erwärmung der Lösung unterschiedliche Kupfer(II)-Addukte sowohl mit dem Edukt als auch mit dem gebildeten 3,5-DTBQ bzw. Triethylamin ausbilden und somit die geringe Absorbanz von 3,5-DTBQ im UV/Vis-Spektrum überlagern. Eine Isolierung der resultierenden Produkte war nicht möglich, da die Messungen mit dem CryoVac Konti Kryostat durchgeführt werden mussten, um eine konstante Temperatur zu erhalten. Dies hat jedoch den Nachteil, dass das Probenvolumen max. 2 mL betragen kann und damit eine Isolierung der Produkte aufgrund der geringen Konzentration nicht möglich war.

10.6 Desaktivierung der Tyrosinase-Reaktion

Die katalytischen Studien haben gezeigt, dass eine Steigerung der Umsatzrate durch Substitution der hydrolyselabilen Imin-Funktion zu keiner Steigerung der katalytischen Effizienz geführt hat. Die Variation des Ligandengerüsts war, anders als erwartet, verbunden mit einer Erniedrigung der Katalysatorstärke. Dennoch ist es essentiell zu verstehen, warum die hier synthetisierten Systeme nach einer gewissen Zeit bzw. Umsatzrate ihre Katalysatorfähigkeit einbüßen. In vorangegangenen Studien von J. Schottenheim wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich eine nicht katalytische Spezies während der Tyrosinase-Reaktion ausbildet, welche maßgeblich für den Abbruch der Katalyse verantwortlich ist. Ausgehend von der Absorptionsbande bei 600 nm, welche sich während der Oxygenierung ausbildet, wurde ein Bis- μ -hydroxo-Kupfer(II)-Komplex bzw. ein Kupfer(II)-Semichinon-Komplex ($[\text{Cu}(\text{II})(\text{NEt}_3)_2(3,5\text{-DTBSQ})]\text{PF}_6$) postuliert. Die Tatsache, dass beide oder einer dieser Komplexe die Ursache für den Abbruch der Katalyse darstellen, konnte jedoch nicht zweifelsfrei belegt werden.^[170, 174]

Deshalb bestand ein neuer Ansatz zunächst nicht in der Strukturaufklärung der blauen Spezies welche bei 600 nm im UV/Vis-Spektrum sichtbar ist, sondern primär in der Aufklärung, ob die Spezies, die in diesem Bereich absorbiert, überhaupt den limitierenden Faktor der Katalyse darstellt.

Ausgehend von dieser Überlegung wurden die unterschiedlichen Komponenten der Oxygenierungs-Reaktion systematisch miteinander kombiniert. Da sich gezeigt hat, dass die Bande bei 600 nm unabhängig von dem eingesetzten Katalysator bei der Umsetzung von 2,4-DTBP-H entsteht, wurde als Katalysator der Präkursor $[\text{Cu}(\text{I})(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ eingesetzt, der eine *turnover number* von 7 aufweist und nicht erst aufwändig synthetisiert werden musste (Tabelle 10.3).^[167]

Tabelle 10.3: Kombinationen der unterschiedlichen Komponenten der Oxygenierungs-Reaktion in Dichlormethan und die resultierenden Farben der Reaktionslösungen.

Variante	Komponenten in Dichlormethan	O ₂	Farbe	
A	[Cu(I)(CH ₃ CN) ₄]PF ₆ 1 Äq. 3,5-DTBQ	ja	braun	
B	1 äq 3,5-DTBQ 3 Äq. NEt ₃	ja	orange	
C	[Cu(I)(CH ₃ CN) ₄]PF ₆ 3 Äq. NEt ₃	ja	gelb	
D	[Cu(I)(CH ₃ CN) ₄]PF ₆ 1 Äq. 3,5-DTBQ 3 Äq. NEt ₃	nein	grün	
E	[Cu(I)(CH ₃ CN) ₄]PF ₆ 1 Äq. 3,5-DTBQ 3 Äq. NEt ₃	ja	blau	
F	[Cu(I)(CH ₃ CN) ₄]PF ₆ 1 Äq. 3,5-DTBQ 3 Äq. DBU	ja	gelb / grün	

Die erste Oxygenierungs-Lösung bestand aus $[\text{Cu}(\text{I})(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ und 1 Äq. 3,5-DTBQ. Einleiten von molekularem Sauerstoff für 1 h ergab eine braune Lösung. Das UV/Vis-Spektrum zeigt ausschließlich die Absorptionsbande für 3,5-DTBQ bei 405 nm (Abbildung 10.69, links). Die schwache Absorptionsbande bei 550 nm ist ebenfalls dem *ortho*-Chinon zuzuordnen. Somit konnte ausgeschlossen werden, dass die Absorptionsbande bei 600 nm aus einem Addukt von Kupfer(I)-Salz und *ortho*-Chinon stammt.

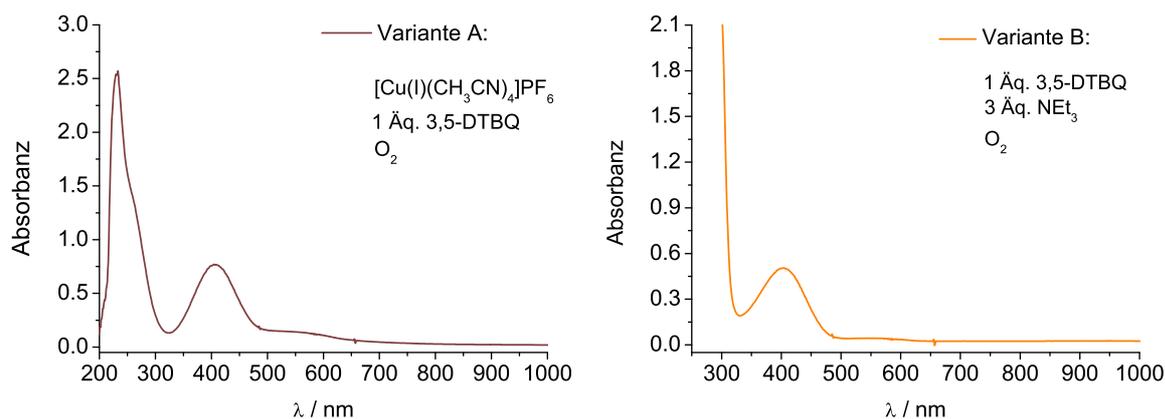


Abbildung 10.69: UV/Vis-Absorptionsspektren der Variante A (links) und der Variante B (rechts) in Dichlormethan.

Variante B bestand aus 1 Äq. 3,5-DTBQ und 3 Äq. Triethylamin, um eine Folgereaktion des *ortho*-Chinons ohne Einfluss des Kupferkomplexes auszuschließen. Das Einleiten von Sauerstoff ergab eine orange Lösung, dessen Spektrum ebenfalls ausschließlich 3,5-DTBQ zeigte (Abbildung 10.69, rechts).

Der anschließende Kombinationsversuch (Variante C) aus $[\text{Cu}(\text{I})(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$, 3 Äq. Triethylamin und Sauerstoff in Dichlormethan ergab ebenfalls keine blaue Spezies, die bei 600 nm absorbierte, sondern eine gelbe Lösung mit mehreren Banden zwischen 250 nm und 450 nm (Abbildung 10.70, links).

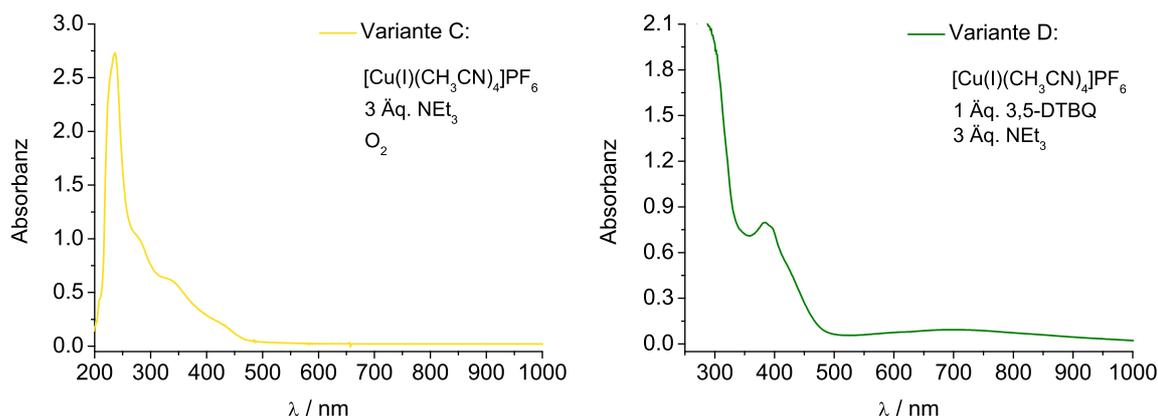


Abbildung 10.70: UV/Vis-Absorptionsspektren der Variante C (links) und der Variante D (rechts) in Dichlormethan.

Ein weiterer Versuchsansatz (Variante D) bestand in der Kombination aller drei Komponenten ($[\text{Cu(I)}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$, 1 Äq. 3,5-DTBQ und 3 Äq. NEt_3). Allerdings wurde diesmal kein Sauerstoff in die Reaktionslösung eingeleitet. Nachdem das Reaktionsgemisch 1 h unter anaeroben Bedingungen gerührt wurde, wies das UV/Vis-Spektrum der grünen Lösung eine breite Bande bei ca. 700 nm auf und eine weitere Absorptionsbande bei ca. 390 nm, welche ebenfalls nicht der gesuchten blauen Substanz entsprechen (Abbildung 10.70, rechts).

Die darauffolgende Variante E fand unter aeroben Bedingungen statt und bestand analog zu Variante D aus einer Kombination von Kupfer(I)-Salz, 1 Äq. DTBQ und 3 Äq. Triethylamin. Die UV/Vis-Spektren von Variante E unterschieden sich zunächst nicht von denen der Variante D, bei der anaerob gearbeitet wurde (Abbildung 10.71, links). Erst nach ca. 30 min bildete sich langsam eine Absorptionsbande bei 600 nm aus, wobei ein Farbumschlag von grün nach blau beobachtet werden konnte. Nach 24 h wurde keine Änderung des Spektrums mehr verzeichnet. Die säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan, ergab ein blaues Öl. Dieses wurde zunächst NMR-spektroskopisch untersucht. Anhand der NMR-Spektren konnte jedoch keine eindeutige Aussage über die Struktur getroffen werden. Um den Kupferanteil der Probe zu ermitteln, wurden AAS- und EDX-Messungen durchgeführt. Beide Methoden ergaben, dass kein Kupfer in der Probe vorhanden ist.

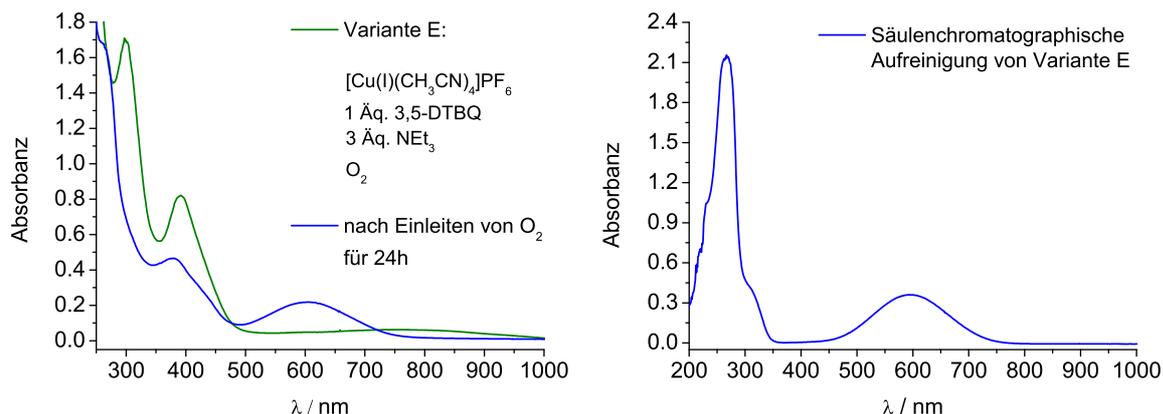


Abbildung 10.71: UV/Vis-Absorptionsspektren der Variante E (links) und nach säulenchromatographischer Aufreinigung (rechts) in Dichlormethan.

Die Erkenntnis, dass alle drei Komponenten für die Ausbildung der gesuchten Spezies essentiell sind, ließ weitere Variationen zu. Hierbei wurde zunächst die Base Triethylamin gegen Diazabicycloundecan (DBU) ersetzt, da DBU im Gegensatz zu Triethylamin nicht an das Kupfer-Zentrum koordiniert. Das Einleiten von Sauerstoff in eine Lösung, bestehend aus Kupfer(I)-Salz, 1 Äq. 3,5-DTBQ und 3 Äq. DBU, ergab eine gelb/grüne Lösung mit einer intensiven Absorptionsbande bei 400 nm und zwei sehr schwache Banden bei 580 nm und ca. 700 nm (Abbildung 10.72). Auch nach 48 h konnte keine Absorptionsbande bei 600 nm beobachtet werden.

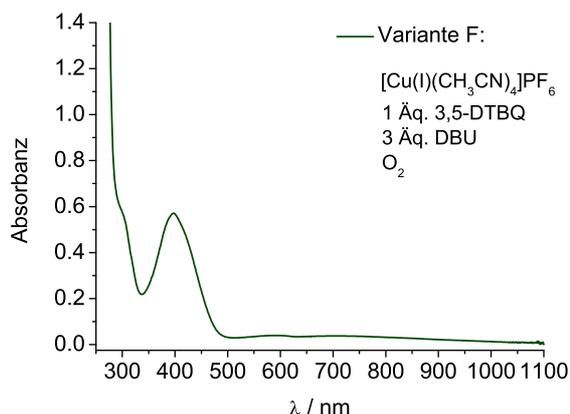


Abbildung 10.72: UV/Vis-Absorptionsspektrum der Variante F in Dichlormethan.

Letzten Endes konnte die Identität der blauen Spezies, mit der Absorptionsbande bei 600 nm, zwar nicht geklärt werden, allerdings gelang es, die Entstehung der blauen Spezies durch Substitution von Triethylamin gegen DBU zu verhindern. Somit ist es nun möglich,

die zentrale Fragestellung, ob diese Spezies limitierend für die Katalyse ist, zu beantworten, indem die Oxygenierung in Anwesenheit von DBU als Base durchgeführt wird. Für den Fall, dass die blaue Spezies bei 600 nm umsatzlimitierend für die Katalyse ist, wird erwartet, dass die Substitution von NEt_3 gegen DBU zu einer Steigerung der *turnover number* führt.

Das folgende Experiment wurde mit CuLimz1 durchgeführt, da sich dieser als aktivster Tyrosinase-Katalysator in dieser Arbeit herauskristallisierte und sich die Absorptionsbande bei 600 nm während der Katalyse gut sichtbar ausbildete. Es wurde eine $500 \mu\text{M}$ Lösung von CuLimz1 in Dichlormethan hergestellt und 50 Äq. 2,4-DTBP-H sowie 100 Äq. DBU hinzugefügt. Nach Einleiten von Sauerstoff wurde der Reaktionsfortschritt UV/Vis-spektroskopisch verfolgt (Abbildung 10.73).

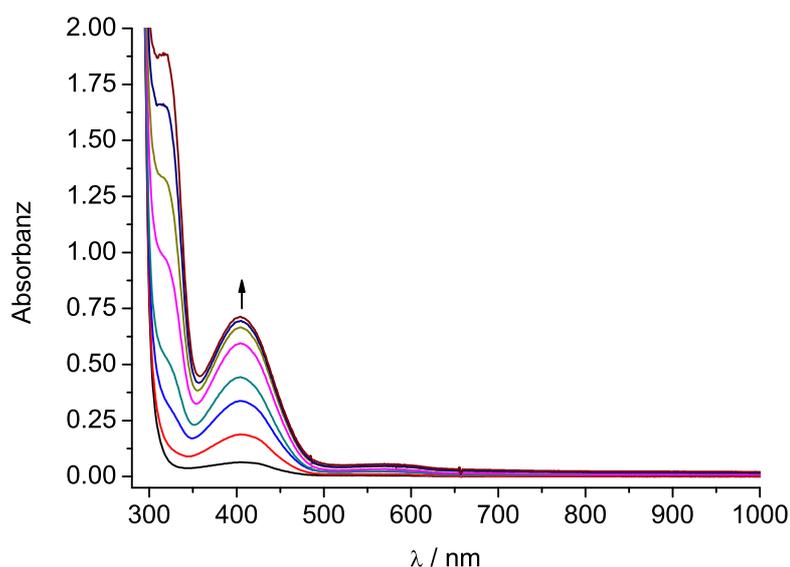


Abbildung 10.73: UV/Vis-Absorptionsspektren während der Oxygenierung von 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. DBU in Anwesenheit von CuLimz1 ($500 \mu\text{M}$) (Schichtdicke: $l = 1 \text{ mm}$, Dichlormethan). Das erste Spektrum wurde nach 15 min detektiert, das letzte nach 3 h.

Erwartungsgemäß konnte keine Ausbildung der Absorptionsbande bei 600 nm während der Katalyse beobachtet werden. Die maximale *turnover number* betrug 16 nach 3 h. Diese entspricht der gleichen Umsatzrate, wie bei der Oxygenierung von 2,4-DTBP-H und Triethylamin mittels CuLimz1 .

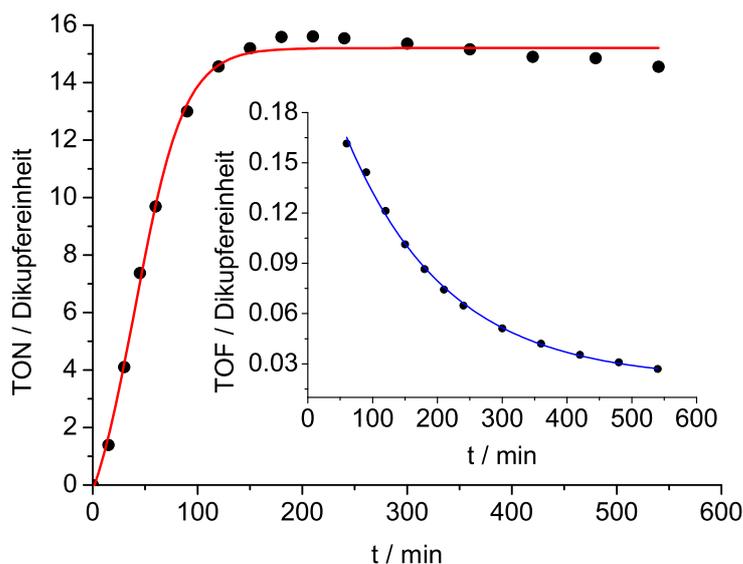


Abbildung 10.74: Graphische Darstellung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 3,5-DTBQ pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit. Einschub: *Turnover frequency* pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

In Abbildung 10.74 ist noch einmal die zeitabhängige Auftragung der *turnover number* und der *turnover frequency* gezeigt. Auch hier können keine nennenswerten Unterschiede im Vergleich zu der Oxygenierung mit Triethylamin gefunden werden.

Daraus kann geschlossen werden, dass die intensiv blaue Spezies nur in Anwesenheit von Triethylamin generiert wird und die Bildung durch den Austausch gegen DBU vermieden werden kann. Ferner ist gezeigt worden, dass die Substitution der Base, entgegen der Erwartungen, keinen Einfluss auf die *turnover number* hat und die blaue Spezies damit nicht umsatzlimitierend für die Katalyse ist, sondern wahrscheinlich erst gebildet wird, wenn die Katalyse abgeschlossen ist.

Mittels Ausschlussverfahren ist es somit gelungen, die Hypothese zu widerlegen, dass die entstehende Substanz welche bei 600 nm absorbiert einen Einfluss auf die katalytische Effizienz ausübt. Allerdings ist noch kein Grund für die Limitierung der Tyrosinase-Reaktion gefunden worden. Eine weitere Möglichkeit, die in Betracht gezogen werden sollte, stellt die Produktinhibierung dar. Es ist auffällig, dass bei allen literaturbekannten katalytischen Tyrosinase-Modellsystemen eine maximale *turnover number* von 31 nicht überschritten wurde.^[132] Im Fall einer Produktinhibierung würde das gebildete *ortho*-Chinon mit dem Kupfer-Ion ein Addukt bilden, welches anschließend für die Katalyse nicht mehr zur Verfügung stünde.

Die Überprüfung dieser Annahme wurde mit dem Stammsystem CuL_{py}1 durchgeführt, da dieses mit einer maximalen *turnover number* von 22 eine höhere Umsatzrate als CuL_{imz}1 besitzt und damit besser für dieses Experiment geeignet ist. Unter anaeroben Bedingungen wurde eine 500 μM Lösung von CuL_{py}1, 50 Äq. 2,4-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Dichlormethan hergestellt. Anschließend wurde so lange Sauerstoff in die Reaktionslösung geleitet, bis das System eine *turnover number* von ca. 10 für die Bildung von 3,5-DTBQ erreicht hat. Im Anschluss wurden 12 Äq. 3,5-DTBQ in einer Portion hinzugefügt, woraufhin die Chinonkonzentration insgesamt der maximalen *turnover number* von 22 entsprach, welche für das CuL_{py}1-System gefunden wurde (Abbildung 10.75, links).^[166, 167]

Die zeitabhängige Auftragung der *turnover number* pro Dikupfereinheit zeigte einen steilen Anstieg innerhalb der ersten 30 min (Abbildung 10.75, rechts). Die darauffolgende Zugabe von 12 Äq. 3,5-DTBQ als Feststoff zeigte keine vollständige Produktinhibierung. Direkt nach Zugabe des *ortho*-Chinons wurde eine *turnover number* von 24 berechnet. Innerhalb der nächsten 4.5 h fand ein weiterer Anstieg von 6 *turnover number* statt. Die zweite Hälfte der Kurve verläuft zwar deutlich flacher, dennoch kann keine Produktinhibierung angenommen werden, da das CuL_{py}1-System, trotz Überschuss an Produkt, insgesamt eine *turnover number* von ca. 18 erreicht hat.

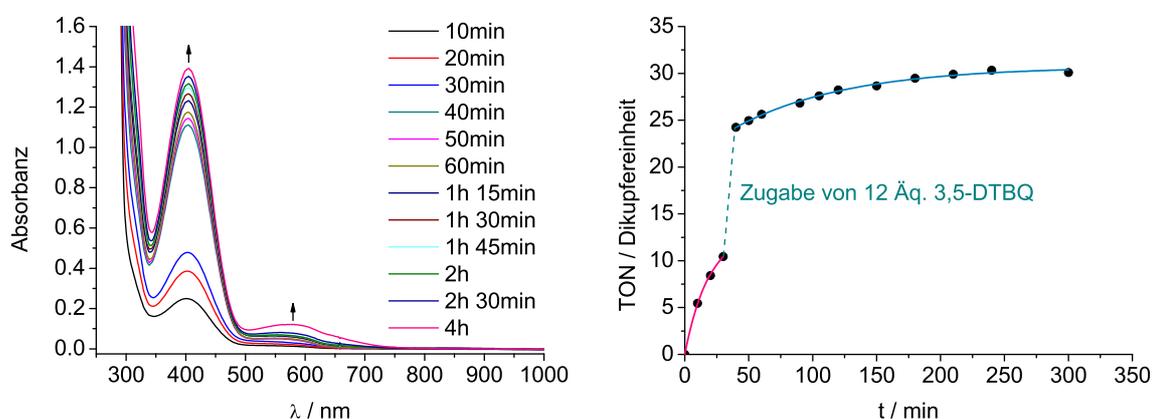


Abbildung 10.75: Links: UV/Vis-Absorptionsspektren der Oxygenierung von 50 Äq. 3,5-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuL_{py}1 (500 μM) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Nach 30 min wurden 12 Äq. 3,5-DTBQ hinzugefügt. Rechts: Auftragung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 3,5-DTBQ pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Während der Tyrosinase-Reaktion wird pro gebildetem *ortho*-Chinon auch immer 1 Äq. Wasser generiert. Dieser Aspekt wurde in dem vorangegangenen Experiment zunächst außer Acht gelassen. Da die Wasserproduktion während der Katalyse ebenfalls eine Rolle für die geringen Umsatzraten spielen könnte, wurde das Experiment wiederholt und folglich 12 Äq. 3,5-DTBQ und 12 Äq. Wasser hinzugefügt (Abbildung 10.76).

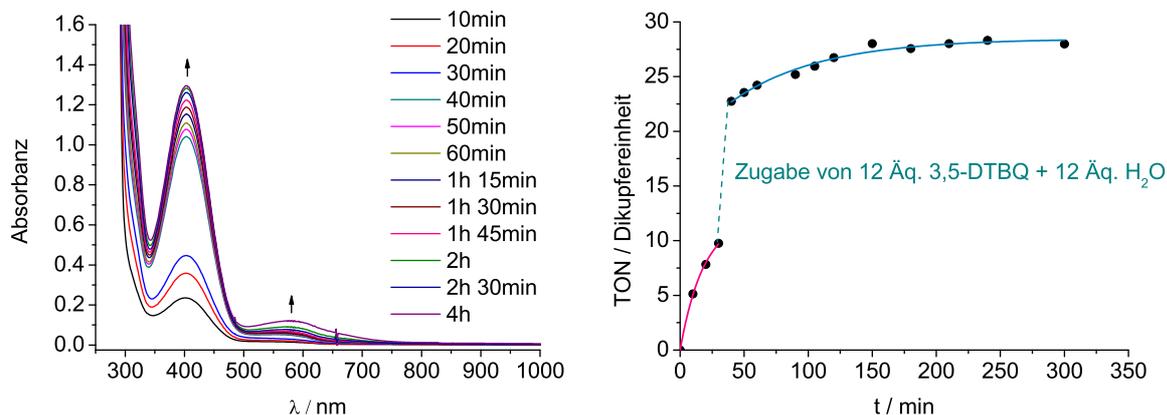


Abbildung 10.76: Links: UV/Vis-Absorptionsspektren der Oxygenierung von 50 Äq. 3,5-DTBP-H und 100 Äq. Triethylamin in Anwesenheit von CuLpy1 (500 µM) (Schichtdicke: $l = 1$ mm, Dichlormethan). Nach 30 min wurden 12 Äq. 3,5-DTBQ und 12 Äq. H₂O hinzugefügt. Rechts: Auftragung der *turnover number* der katalytischen Bildung von 3,5-DTBQ pro Dikupfereinheit in Abhängigkeit der Zeit.

Die erhaltenen Spektren unterscheiden sich kaum von denen des ersten Experimentes in Abbildung 10.75. Auch bei diesem Durchgang wurde nach 30 min eine *turnover number* von 10 erreicht. Die Zugabe von 12 Äq. 3,5-DTBP-H als Feststoff und 12 Äq. Wasser führten in diesem Fall ebenfalls nicht zu einer vollständigen Produktinhibierung. Innerhalb der nächsten 4,5 h fand eine weitere Zunahme von 5 *turnover number* statt. Es ist somit nicht davon auszugehen, dass eine Entfernung des Produktes während der Katalyse zu einer gesteigerten Umsatzrate führen wird.

10.7 DFT-Rechnungen

10.7.1 Geometrie-Optimierung der Kupfer(I)-Komplexe

Aufgrund der Tatsache, dass es für alle fünf Kupfer(I)-Komplexe (CuLoL1-3, CuLimz1, CuBIMZ) nicht gelang geeignete Einkristalle für die Einkristallstrukturanalyse zu erhalten, wurden DTF-Rechnungen durchgeführt, um dennoch Informationen bezüglich der Geometrien zu erhalten. Die quantenchemischen Rechnungen wurden mit Gaussian 09 Rev. C.01^[249] durchgeführt. Die Strukturoptimierung erfolgte mit dem Funktional uB3LYP^[84] und dem triple-zeta-Ahlrichs-Basissatz def2-TZVP^[85]. Die Geometrie von CuLimz1 wurde zunächst mit dem Basissätzen 6-311g^[250, 251, 252] und LANL2DZ^[184, 253, 254] voroptimiert und im Anschluss der Basissatz def2-TZVP angewendet. Die DTF-optimierten Strukturen wurden mit dem Programm POV-Ray Version 3.6 gerendert und mit Diamond 3.1 abgebildet.

Die Geometrie-optimierten Strukturen der Oxazolin-basierten Modellsysteme CuLoL1-3 sind in Abbildung 10.77 dargestellt. Die Koordinationssphäre des Metallzentrums weist in allen drei Kupfer(I)-Komplexen eine verzerrt trigonal-planare Umgebung mit den Stickstoffdonoren der Liganden auf. Die dazugehörigen Winkel befinden sich in einem Bereich von 95.607° bis 138.788°. Ausgewählte Bindungswinkel und Bindungslängen sind in Tabelle 10.4 gezeigt.

Tabelle 10.4: Ausgewählte Bindungswinkel (°) und Bindungslängen (Å) von CuLoL1-3 und CuBIMZ.

	CuLoL1	CuLoL2	CuLoL3	CuBIMZ
N(1)-Cu(1)	2.0474	2.0475	2.0394	2.0272
N(2)-Cu(1)	2.0303	2.0447	2.0332	2.0284
N(3)-Cu(1)	1.9043	1.9051	1.8976	1.8894
N(1)-Cu(1)-N(2)	96.959	95.810	95.607	94.146
N(1)-Cu(1)-N(3)	124.347	125.031	129.782	133.101
N(2)-Cu(1)-N(3)	138.503	138.788	134.608	132.742

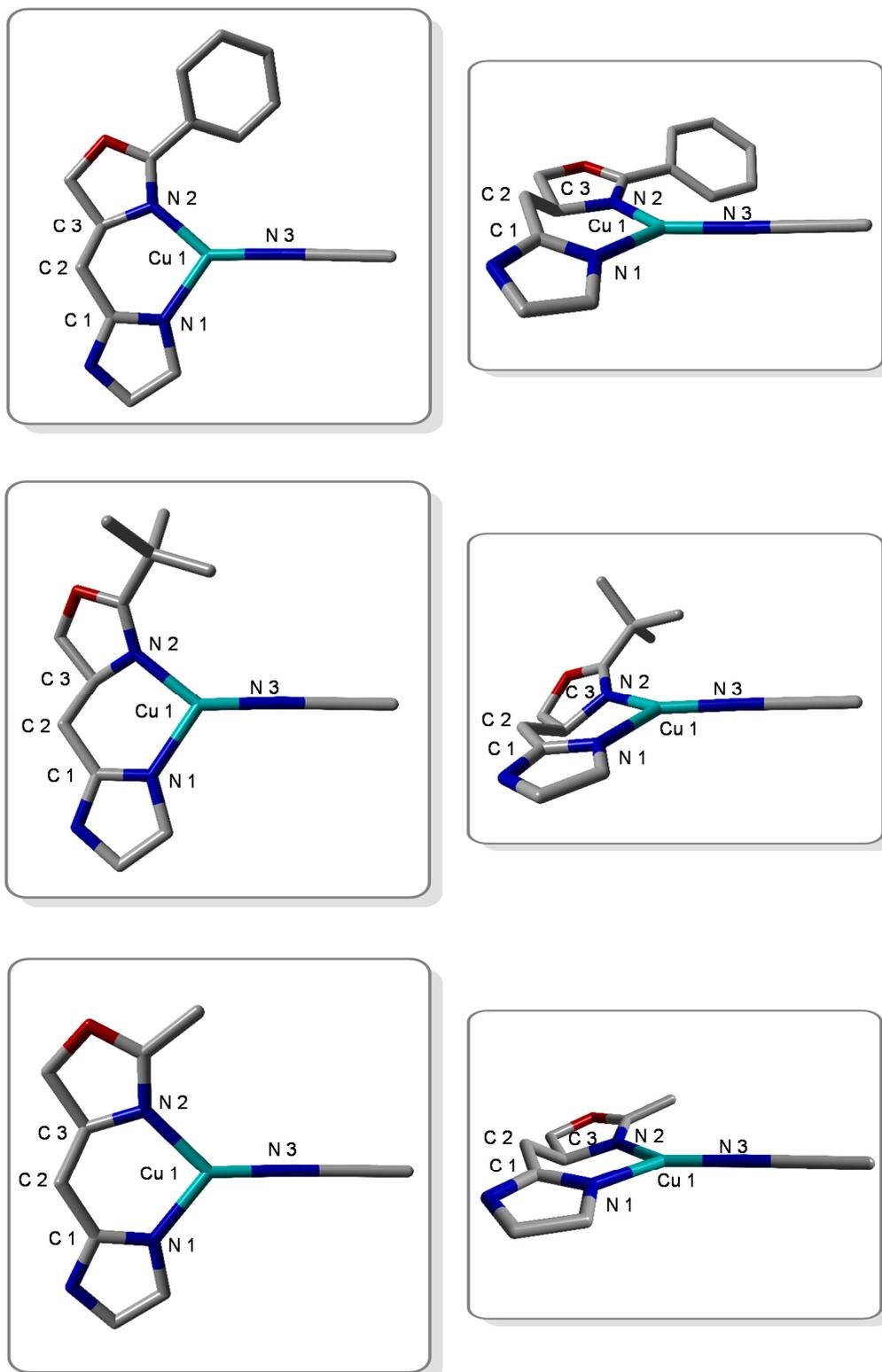


Abbildung 10.77: Unterschiedliche Ansichten der Geometrie-optimierten Strukturen von CuLoL1 (oben), CuLoL2 (Mitte) und CuLoL3 (unten). Die Wasserstoffatome wurden für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, O: rot, Cu: türkis.

In allen drei Modellsystemen weist der N(1)-Cu(1)-N(2)-Winkel mit 95.607° bis 96.959° den geringsten Wert auf. Der Torsionswinkel (N(1)-N(2)-N(3)-Cu(1)) des CuLoL3-Komplexes beträgt 0.435° und impliziert eine nahezu trigonal planare Geometrie des Kupfer-Zentrums. Die Torsionswinkel (N(1)-N(2)-N(3)-Cu(1)) von CuLoL1 mit 3.960° und von CuLoL2 mit 5.334° weichen deutlicher von einer planaren Geometrie des Kupfer(I)-Zentrums ab.

Die Oxazolin-Einheit ist in allen drei Oxazolin-basierten Komplexsystemen gegenüber dem Imidazolring verdrillt. Die ausgeprägteste Verdrillung wurde für CuLoL2 gefunden. Die dazugehörigen Torsionswinkel sind in Tabelle 10.5 aufgelistet.

Tabelle 10.5: Ausgewählte Torsionswinkel ($^\circ$) von CuLoL1-3 und CuBIMZ.

	CuLoL1	CuLoL2	CuLoL3	CuBIMZ
C(2)-C(1)-N(1)-Cu(1)	1.460	1.446	2.078	6.733
C(2)-C(3)-N(2)-Cu(1)	41.983	63.652	51.693	7.608

Analog zu den Oxazolin-basierten Modellsystemen weist das Kupfer(I)-Zentrum von CuBIMZ ebenfalls eine verzerrt trigonal-planare Geometrie auf (Abbildung 10.78). Der N(1)-N(2)-N(3)-Cu(1)-Torsionswinkel beträgt 0.857° (Tabelle 10.4). Auch in diesem Fall weist der N(1)-Cu(1)-N(2) Winkel mit 94.146° den kleinsten Wert auf. Die C(2)-C(1)-N(1)-Cu(1) und C(2)-C(3)-N(2)-Cu(1) Torsionswinkel sind für CuBIMZ nahezu identisch im Gegensatz zu den entsprechenden Torsionswinkeln für CuLoL1-3 (Tabelle 10.5).

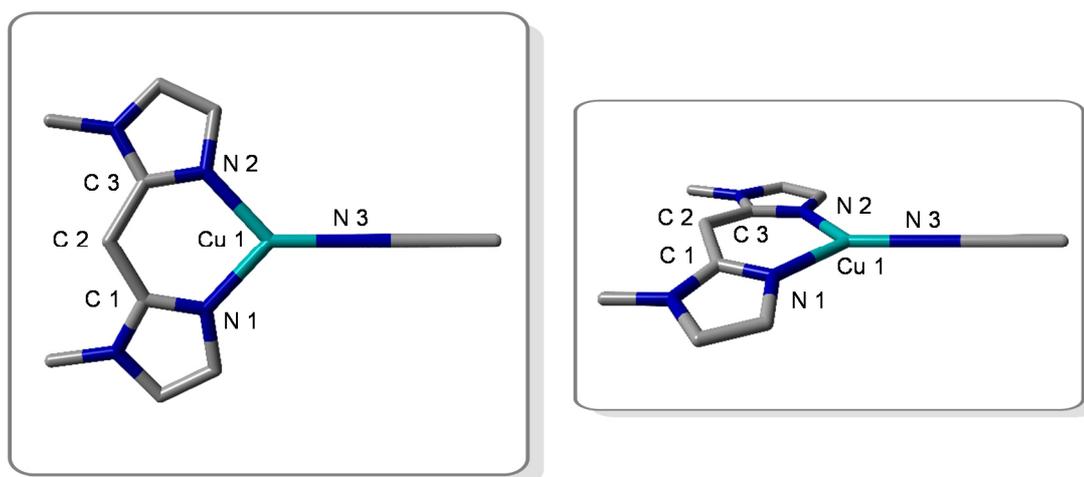


Abbildung 10.78: Geometrie-optimierte Struktur von CuBIMZ. Die Wasserstoffatome wurden für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, Cu: türkis.

Das Tyrosinase- bzw. Catechol Oxidase-Modellsystem CuLimz1 hat anders als die oben vorgestellten Kupfer(I)-Komplexe zwei Acetonitrilmoleküle als Co-Liganden koordiniert. Aus der Geometrie-optimierten Struktur in Abbildung 10.79 resultiert demzufolge eine verzerrt tetraedrische Anordnung des Metall-Zentrums. Ausgewählte Bindungswinkel und Bindungslängen sind in Tabelle 10.6 aufgelistet.

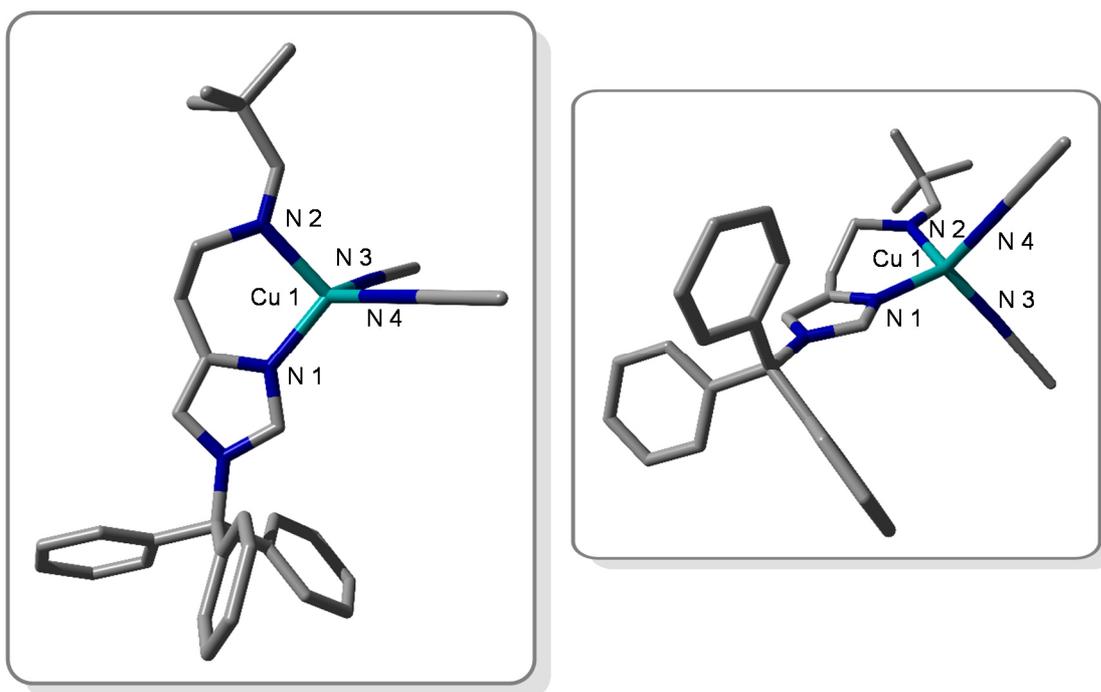


Abbildung 10.79: Geometrie optimierte Struktur von CuLimz1. Die Wasserstoffatome wurden für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau, N: blau, Cu: türkis.

Tabelle 10.6: Ausgewählte Bindungswinkel ($^{\circ}$) und Bindungslängen (\AA) von CuLimz1.

N(1)-Cu(1)-N(2)	97.643	N(2)-Cu(1)-N(3)	109.643
N(1)-Cu(1)-N(3)	116.063	N(2)-Cu(1)-N(4)	111.090
N(1)-Cu(1)-N(4)	115.808	N(3)-Cu(1)-N(4)	106.350
N(1)-Cu(1)	2.0488	N(2)-Cu(1)	2.1344
N(3)-Cu(1)	2.0481	N(4)-Cu(1)	2.0425

10.7.2 DFT-Rechnungen zur Aufklärung mechanistischer Unterschiede während der Tyrosinase-Reaktion

Die experimentellen Untersuchungen haben bislang keinen konkreten Grund für die Desaktivierung des Katalysators aufgezeigt. Ferner ist nicht eindeutig, warum die Oxazolin-basierten Systeme nur einen stöchiometrischen Umsatz während der Oxygenierung von 2,4-DTBP-H zeigen, während Cu Limz1 und Cu BIMZ katalytisch aktiv sind. Um Hinweise auf mögliche Unterschiede zwischen den einzelnen Systemen zu erhalten, wurden in Zusammenarbeit mit N. Stucke DFT-Rechnungen durchgeführt.^[255] Hierfür wurde das Programm TURBOMOLE V6.6^[256] mit dem Funktional TPSS^[227] und dem Basissatz def2-SV(P)^[85] verwendet. Zudem wurde eine Van-der-Waals-Korrektur durchgeführt (D3)^[257] und eine RI-Näherung^[229] verwendet.

Die Basis dieser Rechnungen stellt der postulierte Mechanismus von TUCZEK *et al.*^[166] im Jahre 2010 dar. Der Fokus lag hierbei auf Compound 4, da die stöchiometrischen Oxygenierungen zu diesem Zeitpunkt die ersten Unterschiede im UV/Vis-Spektrum aufweisen (Kapitel 10.2).

Hierbei sollten die relevanten Intermediate des Tyrosinase-Zyklus für ein Modellsystem, welches einen stöchiometrischen Umsatz von 2,4-DTBP-H aufweist mit dem eines katalytisch aktiven Katalysators verglichen werden. Als stöchiometrisch aktiven Kupfer(I)-Komplex wurde das System mit dem Liganden LoL3 gewählt, da dieses den geringsten sterischen Einfluss aufweist. Die erhaltenen Daten sollten anschließend mit dem katalytischen Modellsystem Cu Limz1 verglichen werden. Um den Rechenaufwand zu verringern, wurden sowohl die Trityl-Einheit als auch die *tert*-Butylgruppe durch Methylgruppen substituiert. Dieser modifizierte Ligand wird im Folgenden als Limz1^\dagger bezeichnet. Des Weiteren wurden auch die beiden *tert*-Butylgruppen des für die Katalyse verwendeten Substrates durch Methyl-Einheiten (2,4-Dimethylphenol, 2,4-DMP-H) ersetzt (Abbildung 10.80).

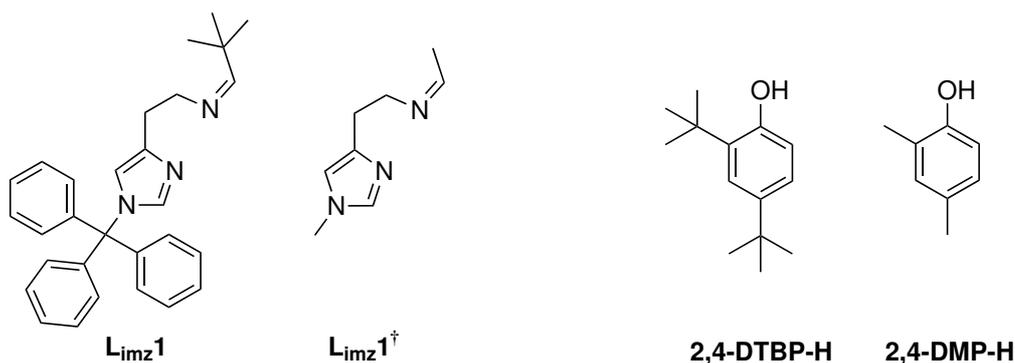


Abbildung 10.80: Modifizierung des Liganden **Limz1** und des Substrats 2,3-DTBP-H für die DFT-Rechnungen.

Zunächst wurden die Geometrien der jeweiligen μ - η^2 : η^2 -Peroxo-Kupfer(II)-Komplexe ($[\text{Cu}(\text{II})_2(2,4\text{-DMP})_2(\text{O}_2)(\text{LoL3})_2]$ und $[\text{Cu}(\text{II})_2(2,4\text{-DMP})_2(\text{O}_2)(\text{Limz1}^\dagger)_2]$) optimiert, welche pro Kupfer-Zentrum ein deprotoniertes Substrat (2,4-DMP) koordinieren (Abbildung 10.81).

Es ist deutlich zu erkennen, dass beide μ - η^2 : η^2 -Peroxo-Kupfer(II)-Komplexe unabhängig vom Liganden eine ausgeprägte „butterfly“-Struktur aufweisen, in der die Cu-O₂-Cu-Winkel nicht planar vorliegen. Die Kupfer(II)-Zentren wurden mit einer antiferromagnetischen Kopplung berechnet. Der O-O-Abstand beträgt 1.442 Å für **LoL3** und 1.430 Å für **Limz1[†]**, welche sich in einem typischen Bereich für μ - η^2 : η^2 -Peroxo-Kupfer(II)-Komplexe befinden.^[4] Der Cu-Cu-Abstand weist einen Wert von 2.695 Å für **LoL3** und 2.757 Å für **Limz1[†]** auf. Der Cu-O-Cu-Bindungswinkel beträgt 80.3° für **LoL3** und 84.6° für **Limz1[†]**. Jedes der Kupfer-Atome ist verzerrt quadratisch-pyramidal von den Liganden **LoL3** bzw. **Limz1[†]**, der Peroxo-Einheit und dem koordinierten Substrat umgeben. Die Geometrie-optimierten Strukturen der Peroxokomplexe mit den Liganden **LoL3** und **Limz1[†]** zeigen keine nennenswerten Unterschiede auf.

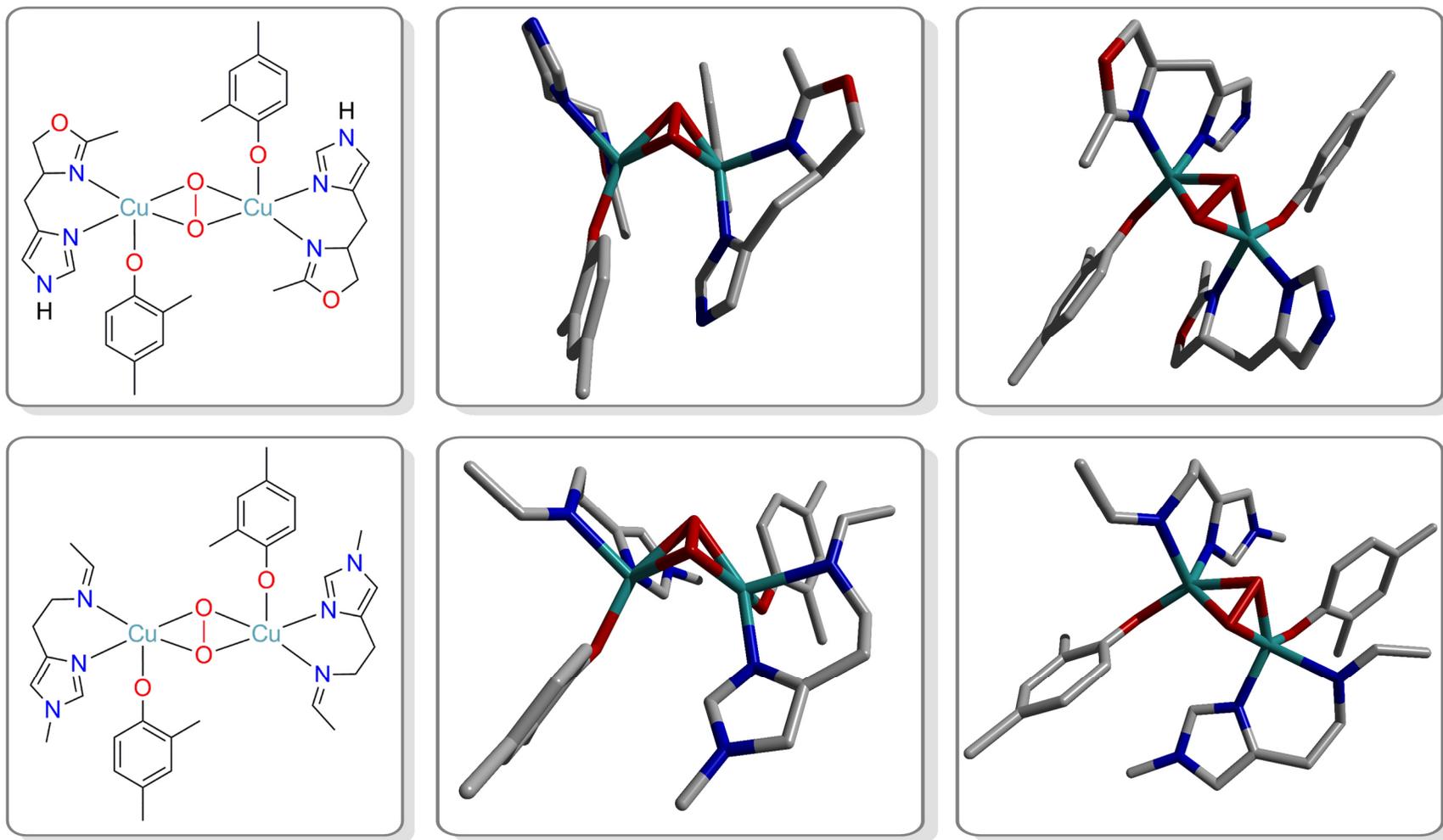


Abbildung 10.81: Unterschiedliche Ansichten der Geometrie-optimierten Strukturen von $[\text{Cu}(\text{II})_2(2,4\text{-DMP})_2(\text{O}_2)(\text{LoL3})_2]$ (oben) und $[\text{Cu}(\text{II})_2(2,4\text{-DMP})_2(\text{O}_2)(\text{Limz1}^+)_2]$ (unten). Die Protonen sind für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau; N: blau; O: rot; Cu: türkis.

Während der katalytische Zyklus durchlaufen wird, findet ein elektrophiler Angriff der Peroxo-Einheit in *ortho*-Position des 2,4-DMP statt, so dass 3,5-Dimethylcatechol (3,5-DTC) gebildet wird. Desweiteren findet ein Protontransfer auf das andere Sauerstoff-Atom der Peroxo-Einheit statt, wodurch die Peroxo-Bindung gespalten wird. Die Kupfer(II)-Zentren liegen anschließend sowohl Hydroxo- als auch Catecholato-verbrückt vor (Compound 4). Das zweite Substrat koordiniert zunächst unverändert an dem gegenüberliegenden Kupfer(II)-Zentrum. Die optimierten Strukturen dieser zweikernigen Kupfer(II)-Komplexe $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{Lol3})_2]$ und $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{Limz1}^\dagger)_2]$ sind in Abbildung 10.82 und Abbildung 10.83 gezeigt.

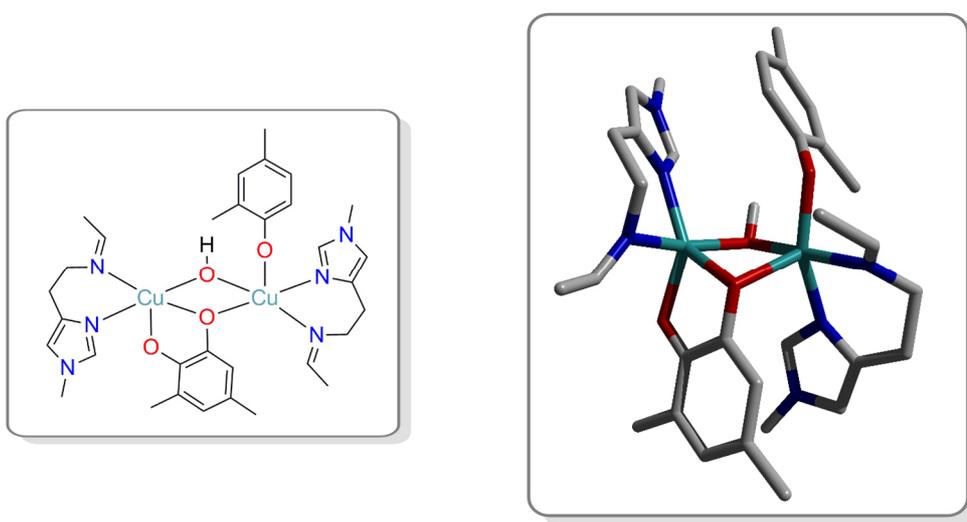


Abbildung 10.82: Geometrie-optimierte Struktur von $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{Limz1}^\dagger)_2]$. Die Protonen sind für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau; H: dunkelgrau; N: blau; O: rot; Cu: türkis.

Diese Strukturen weisen einen signifikanten Unterschied auf. Während bei dem $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{Limz1}^\dagger)_2]$ -Komplex weiterhin beide Stickstoff-Atome des Limz1^\dagger Liganden koordinieren, liegt im Fall von $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{Lol3})_2]$ eine der Oxazolin-Einheiten dekoordiniert vor. Der teilweise dekoordinierte Ligand befindet sich an dem Kupfer(II)-Zentrum, an dem das Phenolat gebunden ist. Der Abstand zwischen der dekoordinierten Oxazolin-Einheit und dem Wasserstoffatom der Hydroxo-Brücke beträgt 1.969 Å, was auf eine Wasserstoffbrückenbindung schließen lässt. Durch die Dekoordination dieser Einheit verliert das Modellsystem möglicherweise die Fähigkeit, das zweite Phenolat zu hydroxylieren und anschließend zum *ortho*-Chinon zu oxidieren.

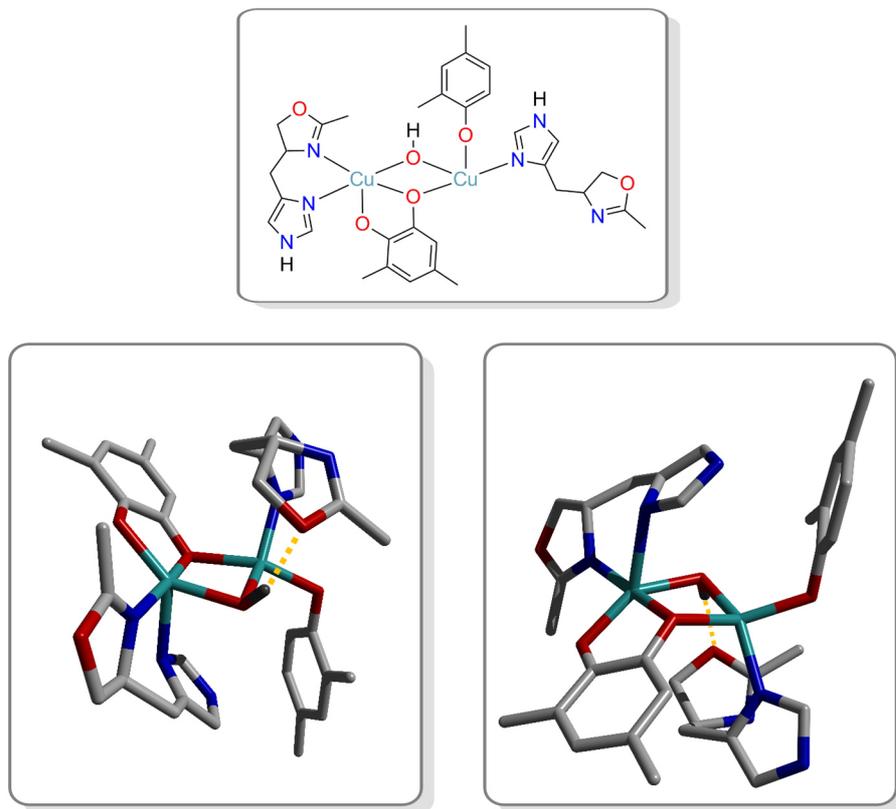


Abbildung 10.83: Unterschiedliche Ansichten der Geometrie-optimierten Struktur von $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})\text{-}(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{LoL3})_2]$. Die Protonen sind für eine bessere Übersichtlichkeit nicht abgebildet. Farbcode: C: grau; H: dunkelgrau; N: blau; O: rot; Cu: türkis, orange: Wasserstoffbrückenbindung.

Die Ergebnisse der DFT-Rechnungen stehen in guter Übereinstimmung mit den experimentell erhaltenen Daten für die Oxygenierung von 2,4-DTBP-H. Es ist sehr wahrscheinlich, dass der CuLoL3 Katalysator auf der Stufe des $[\text{Cu}_2(3,5\text{-DMC})\text{-}(2,4\text{-DMP})(\text{OH})(\text{LoL3})_2]$ -Komplexes (Compound 4) zerstört wird, das koordinierte Catecholat freigesetzt wird und durch den Einfluss von Triethylamin und Sauerstoff zum -*ortho*-Chinon oxidiert wird. Dies würde die beobachtete stöchiometrische Umsetzung von 2,4-DTBP-H mittels CuLoL1-3 begründen. Während der Freisetzung des Catecholats zerfällt der binukleare Kupfer(II)-Komplex möglicherweise in zwei mononukleare Kupfer(II)-Spezies (bspw. $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL3})(\text{L})]$ $\text{L} = \text{NEt}_3$ oder Lösungsmittel und $[\text{Cu}(\text{II})(\text{OH})(\text{LoL3})]$), die nicht mehr in den katalytischen Zyklus zurückgeführt werden können. Diese Hypothese steht im Einklang mit der Tatsache, dass für die Oxazolin-basierten Modellsysteme trotzdem das entsprechende Peroxo-Intermediat detektiert werden konnte.

11 Zusammenfassung der Ergebnisse aus Teil II

Im Rahmen dieser Arbeit ist es erfolgreich gelungen, fünf neue Imidazol-basierte Kupfer(I)-Komplexe (CuLoL1, CuLoL2, CuLoL3, CuLimz1, CuBIMZ) zu synthetisieren und ihre Catechol Oxidase- und Tyrosinase-Reaktivitäten bezüglich externen Substraten zu untersuchen.^[184] Abbildung 11.1 zeigt eine erste Übersicht der durchgeführten Reaktionen, welche durch die hier dargestellten Modellsysteme katalysiert wurden. In den folgenden Abschnitten wird näher auf die erzielten Ergebnisse eingegangen.

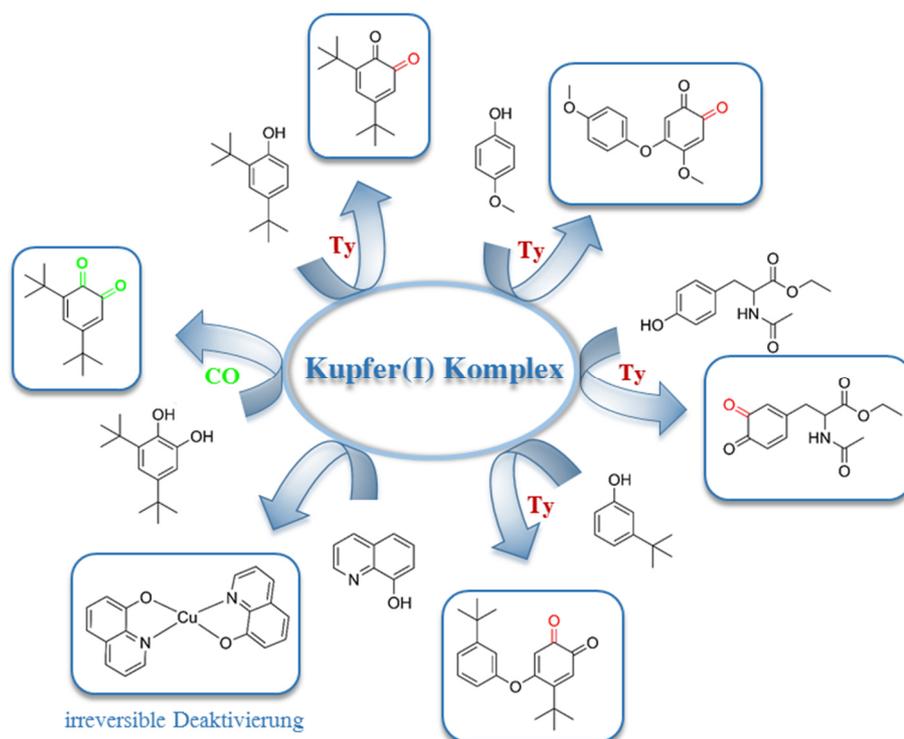


Abbildung 11.1: Übersicht der Catechol Oxidase- und Tyrosinase-Reaktivitäten der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Kupfer(I)-Komplexe.

11.1 Catechol Oxidase-Reaktivität

Die Catechol Oxidase-Reaktion aller fünf untersuchten Modellsysteme konnte erfolgreich anhand der vollständigen Umsetzung von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBQ mittels UV/Vis- und NMR-Spektroskopie gezeigt werden. Die zeitabhängigen Messungen wiesen zu Beginn der Katalyse zunächst die Bildung von freiem Semichinon (3,5-DTBSQ) auf, welches anschließend zum *ortho*-Chinon oxidiert wurde. Basierend auf der Michaelis-Menten-Theorie gelang es, eine quantitative Aussage über die Anfangsgeschwindigkeiten der Bildung von 3,5-DTBSQ zu treffen. Die Variation der Substratkonzentration zeigte hierbei ein Sättigungsverhalten bei hohen Catecholkonzentrationen, während die Variation der Komplexkonzentration einen linearen Verlauf aufwies. In beiden Fällen ergab die resultierende Reaktivitätsabstufung den in Abbildung 11.2 gezeigten Trend.

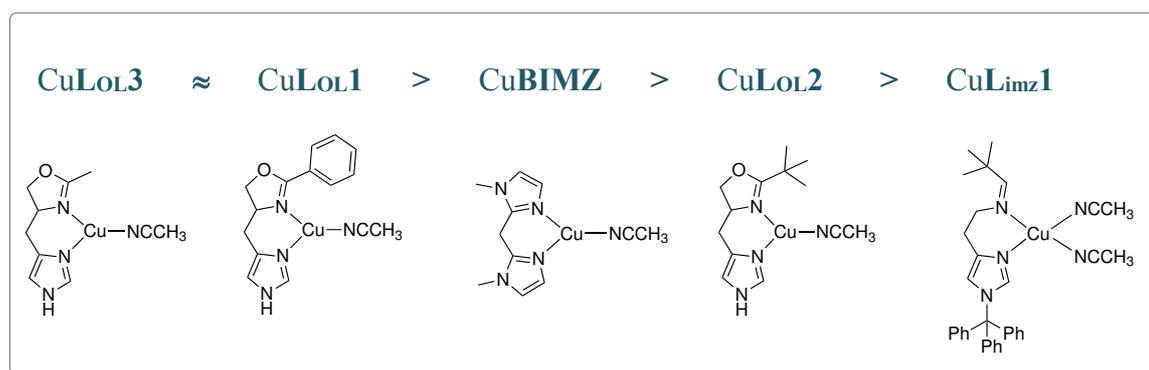


Abbildung 11.2: Abstufung der Reaktionsgeschwindigkeiten der Kupfer(I)-Komplexe für die Oxidation von 3,5-DTBC-H₂ zu 3,5-DTBSQ.

Besonders innerhalb der Oxazolin-basierten Modellsysteme lässt sich eine Korrelation zwischen der Reaktionsgeschwindigkeit und dem Ligandendesign beobachten. Vor dem Hintergrund, dass sowohl die Methyl-Einheit von CuLoL3 als auch die drehbare Phenylgruppe des CuLoL1-Komplexes das aktive Zentrum viel weniger abschirmen als die sphärische *tert*-Butyl-Einheit des CuLoL2-Komplexes, ergaben sich signifikant höhere Werte für v_{\max} und k_{cat} für CuLoL1 sowie für CuLoL3 im Vergleich zu CuLoL2. Die Reaktionsgeschwindigkeit von CuLimz1 wies die geringsten Werte auf.

Aufgrund der beobachteten linearen Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Katalysatorkonzentration, wurde ein mononuklearer Mechanismus postuliert, wodurch die

Bildung von Wasserstoffperoxid statt Wasser während der Katalyse favorisiert ist. Da jedoch keine Akkumulation von Wasserstoffperoxid während der Reaktion nachgewiesen werden konnte, allerdings eine signifikante Katalase-Aktivität für alle fünf Komplexe ermittelt wurde, wird davon ausgegangen, dass zwar Wasserstoffperoxid während der Oxidations-Reaktionen generiert wurde, dieses sich jedoch aufgrund der Katalase-Aktivität nicht akkumuliert.

Darüber hinaus gelang es, durch die Verfolgung der Katalyse in einem stöchiometrischen Modus, die Bildung eines Kupfer(II)-Semichinon-Komplexes als weiteres Intermediat der Katalyse zu detektieren und zu charakterisieren. Ausgehend von CuLoL1 konnte somit anschaulich gezeigt werden, dass eine Oxidation von 3,5-DTBC- H_2 zunächst zur Ausbildung von $[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]\text{PF}_6$ führt. Dieser Semichinon-Komplex steht wiederum mit einer Kupfer(II)-Spezies und freiem 3,5-DTBSQ im Gleichgewicht, da die Bildung des Semichinon-Komplexes und des freien Semichinons immer gleichzeitig beobachtet wurde. Anschließend findet die Umwandlung des freien Semichinons über den Semichinon-Komplex in das Produkt 3,5-DTBQ statt.

Ausgehend von dieser stöchiometrischen Messung konnten für den Fall von CuLoL1 die Reaktionsgeschwindigkeiten für die Bildung der Intermediate 3,5-DTBSQ bzw. des Kupfer(II)-Semichinon-Komplexes ($[\text{Cu(II)(LoL1)(3,5-DTBSQ)]\text{PF}_6$) sowie des Produktes 3,5-DTBQ ermittelt werden. Der Vergleich mit den erhaltenen Werten aus der etablierten Michaelis-Menten-Methode zeigte eine gute Übereinstimmung der beiden unterschiedlichen Methoden.

Somit konnte ein umfassender mechanistischer Einblick in die Catechol Oxidase-Reaktion der hier neu entwickelten Systeme erhalten werden.

11.2 Tyrosinase-Reaktion

11.2.1 Oxygenierungs-Reaktionen

Nachdem die Catechol Oxidase-Reaktionen für **CuLoL1-3**, **CuLimz1** und **CuBIMZ** erfolgreich demonstriert werden konnten, wurde die Fähigkeit dieser Kupfer(I)-Komplexe untersucht, analog der nativen Tyrosinase Monophenole in *ortho*-Chinone zu überführen. Da die Tyrosinase-Reaktion unter Réglér-/Bulkowski-Bedingungen stattfand, war es diesbezüglich sinnvoll, vorher die Oxidations-Reaktionen separat zu ermitteln, da das gebildete Catechol durch den erforderlichen Einsatz von Triethylamin bei der Tyrosinase-Reaktion im Beisein von Sauerstoff auch ohne den Einfluss des Katalysators oxidiert wird. Die Detektion der entstandenen Produkte erfolgte durch den Einsatz von UV/Vis-, NMR- und Fluoreszenz-Spektroskopie sowie Massenspektrometrie.

Die Tyrosinase-Reaktionen dieser Modellsysteme wurden anhand fünf unterschiedlicher Substrate (2,4-DTBP-H, 3-TBP-H, 4-MeOH-P, NATEE, 8-Hydroxychinolin) untersucht, die sich in ihren elektronischen und strukturellen Eigenschaften unterscheiden.

Die Oxazolin-basierten Kupfer(I)-Komplexe (**CuLoL1-3**) zeigten ausschließlich eine stöchiometrische Umsetzung von 2,4-DTBP-H zu dem entsprechenden *ortho*-Chinon (Abbildung 11.3). Alle anderen untersuchten Substrate konnten mittels der Oxazolin-basierten Modellsysteme nicht zum *ortho*-Chinon umgesetzt werden.

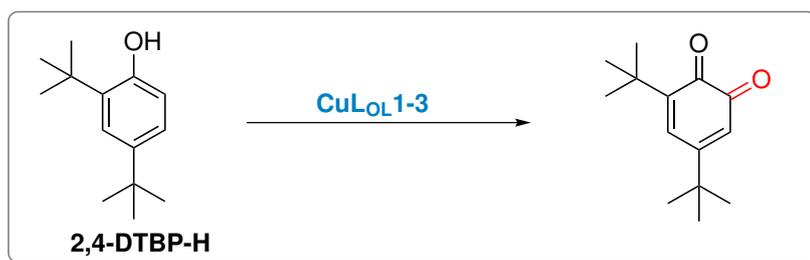


Abbildung 11.3: Stöchiometrische Oxygenierung von 2,4-DTBP-H zu 3,5-DTBQ, katalysiert durch **CuLoL1-3**.

Die Oxygenierungen der unterschiedlichen Monophenole mit **CuLimz1** und **CuBIMZ** ergaben eine signifikant höhere katalytische Effizienz und Substratvielfalt für **CuLimz1** im

Vergleich zu CuBIMZ. Abbildung 11.4 gibt diesbezüglich eine Übersicht der berechneten *turnover number*.

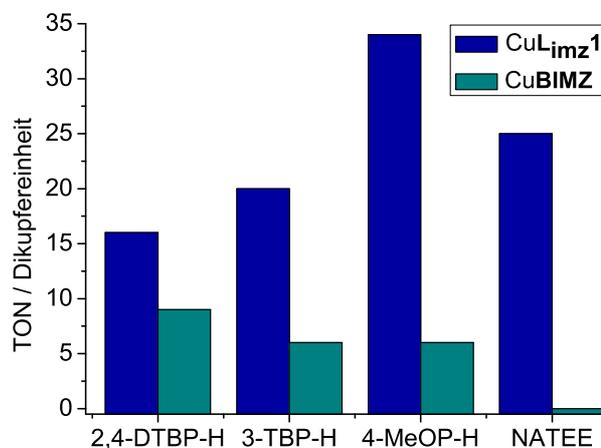


Abbildung 11.4: Übersicht der *turnover number* pro Dikupferereinheit unterschiedlicher Substrate, katalysiert durch CuLimz1 oder CuBIMZ.

Der Einsatz der geringer substituierten Monophenole 3-TBP-H und 4-MeOP-H führte zu der gewünschten Hydroxylierung in *ortho*-Position, allerdings fand gleichzeitig eine Kupplungs-Reaktion in 5-Position des Substrates statt (Abbildung 11.5). Die Oxygenierung von 4-MeOP-H mittels CuLimz1 verlief zunächst selektiv zu dem gekoppelten Chinon 4-Methoxy-5-(4-methoxyphenoxy)cyclohexa-3,5-dien-1,2-dion (Abbildung 11.5). Einhergehend mit der gleichzeitigen Bildung von Wasser während der Katalyse, wurde jedoch eine Weiterreaktion dieses *ortho*-Chinons zu dem *para*-Chinon 2-Hydroxy-5-methoxy-[1,4]benzochinon beobachtet. CuBIMZ bildete eine Reihe von Produkten aus und stellt somit keinen geeigneten Katalysator für die Oxygenierung von 4-MeOP-H dar.

Einen weiteren Beweis für die höhere Substratvielfalt von CuLimz1 liefert die Oxygenierung des biomimetischen Substrates NATEE, welches ausschließlich durch den Katalysator CuLimz1 zu dem entsprechenden Dopachinon *N*-Acetyl-L-dopa oxygeniert werden konnte (Abbildung 11.5).

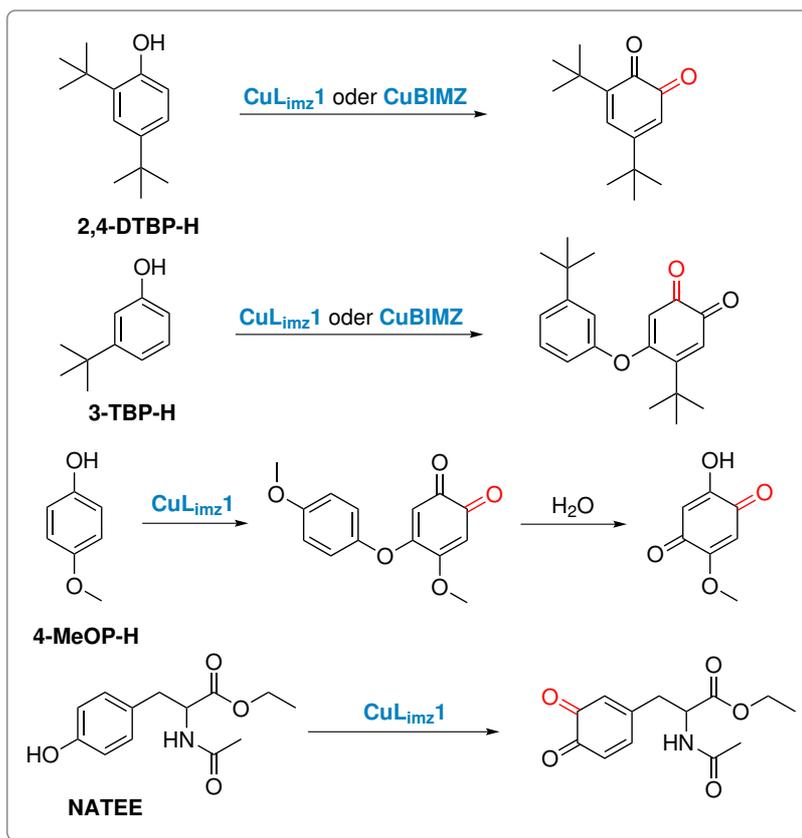


Abbildung 11.5: Dargestellt sind die jeweiligen Produkte der Oxygenierung von 2,4-DTBP-H, 3-TBP-H, 4-MeOP-H und NATEE, die durch den Einsatz der Katalysatoren CuLimz1 und/oder CuBIMZ gebildet wurden.

Die Oxygenierung von 8-Hydroxychinolin konnte weder von CuLimz1 noch von CuBIMZ katalysiert werden. Stattdessen wurden in beiden Fällen der mononukleare Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu(II)(8-Hydroxychinolin)}_2]$ erhalten.

11.2.2 Mechanistische Studien der Tyrosinase

Um die empirisch gewonnenen Daten interpretieren zu können, wurden Oxygenierungen von 2,4-DTBP-H im stöchiometrischen Modus durchgeführt. Durch den Einsatz des katalytisch aktivsten Tyrosinase-Modellsystems CuLimz1 konnten die typischen Absorptionsmerkmale der Catecholato-Kupfer(II)-Spezies, welche sich intermediär analog dem postulierten Reaktionsmechanismus von Tuzek *et al.*^[166] bildet, detektiert werden. Das Produkt der Katalyse stellte 3,5-DTBQ dar, welches bei 400 nm detektiert wurde. Im Gegensatz hierzu

wurde durch den Einsatz der Oxazolin-basierten Systeme (**CuLoL1-3**) und **CuBIMZ** ein Produkt erhalten, welches eine Doppelbande bei 385 nm und 400 nm sowie eine Absorptionsbande bei 523 nm aufwies. Diese Absorptionsmerkmale deuten auf die Bildung von einem Addukt des Kupfer-Komplexes (**CuLoL1-3** bzw. **CuBIMZ**) mit dem oxygenierten Produkt (Semichinon oder Chinon) hin. Aufgrund dessen wird für die Oxazolin-basierten Systeme eine erschwerte Produktfreisetzung auf der Stufe der Catecholato-Kupfer(II)-Spezies postuliert, was die Katalyse verhindert. **CuBIMZ** stellt hierbei einen Grenzfall dar. Dieses Tyrosinase-Modellsystem weist ebenfalls die Absorptionsmerkmale für eine erschwerte Freisetzung auf, ist aber dennoch in einem geringen Maße katalytisch aktiv, so dass in dem Fall vermutet wird, dass die Freisetzung des Chinons zumindest teilweise stattfindet.

Ergänzende DFT-Studien, welche exemplarisch für das **CuLoL3**-System durchgeführt wurden, zeigten, dass auf Stufe der Catecholato-Kupfer(II)-Spezies, die Oxazolin-Einheit des Liganden dekoordiniert. Das bestärkt die Hypothese, dass für den Fall der Oxazolin-basierten Modellsysteme die Oxygenierung nur bis zur Stufe der Catecholato-Kupfer(II)-Spezies verläuft und hier ein Abbruch der Katalyse stattfindet. Für den katalytisch aktiven Komplex **CuLimz1**, welcher für die Rechnungen leicht modifiziert wurde, konnte ein solches Verhalten nicht gefunden werden.

Den Schlüsselschritt der Tyrosinase-Reaktion stellt die Bildung des $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-dikupfer(II)-Komplexes dar. Bei tiefen Temperaturen ist es gelungen, die jeweiligen Peroxo-Intermediate der Komplexe **CuLoL1-3** und **CuBIMZ** zu erzeugen. Für **CuLimz1** konnte das entsprechende Peroxo-Intermediat nicht gefunden werden. Diese Beobachtung bestätigt die zuvor aufgestellte Hypothese, dass das Peroxo-Intermediat umso schneller durchlaufen wird, je aktiver der Katalysator ist und dass hierdurch eine Detektion selbst bei tiefen Temperaturen erschwert wird.^[167]

Der Versuch, eine reversible Generierung der Peroxo-Einheit analog dem Kupfer Typ 3 Enzym Hämocyanin zu erzielen, gelang nicht. Bei den zahlreichen Versuchen entstand lediglich der homoleptische Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu(II)}_2(\text{LoL1})_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$, von dem jedoch eine Kristallstruktur erhalten wurde. Die beobachtete Tendenz, einen solchen inaktiven mononuklearen Kupfer(II)-Komplex in Dichlormethan während der Zufuhr von Sauerstoff auszubilden, könnte einen weiteren Grund darstellen, warum die katalytische Aktivität der in dieser Arbeit untersuchten Kupfer(I)-Komplexe begrenzt ist.

Ein weiterer Aspekt, der in dieser Arbeit behandelt wurde, war die Desaktivierung der Tyrosinase-Reaktion. Die postulierte Annahme aus vorangegangenen Arbeiten^[170, 174], dass die Ausbildung einer Substanz mit der Absorptionsbande bei 600 nm während der Oxygenierungen umsatzlimitierend für die Katalyse ist, konnte eindrucksvoll widerlegt werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Substanz nicht an der Desaktivierung der Katalyse beteiligt ist, sondern ausschließlich ein Produkt darstellt, welches *nach* Beendigung der Reaktion gebildet wird. Ferner wurde bewiesen, dass Triethylamin an der Bildung der Absorptionsbande bei 600 nm beteiligt ist, da der Austausch dieser Base gegen DBU die Ausbildung der Absorptionsbande bei 600 nm verhinderte, jedoch keine Zunahme der Umsatzrate zur Folge hatte. Die Vermutung, dass eine Produktinhibierung maßgeblich für die Desaktivierung der Katalyse verantwortlich ist, konnte nicht bestätigt werden.

11.2.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die entwickelten Modellsysteme dieser Arbeit haben gezeigt, dass der Ligand ausschlaggebend für die katalytische Aktivität der Tyrosinase ist. Schlussendlich kann gesagt werden, dass ein zu starres Ligandendesign zu einer deutlichen Verringerung der *turnover number* führt, wie der Vergleich von CuBIMZ und CuL_{imz}1 verdeutlicht. Im Fall der Oxazolin-basierten Modellsysteme konnte sogar ein kompletter Verlust der katalytischen Tyrosinase-Aktivität beobachtet werden. Ferner konnte durch den Vergleich der Systeme CuBIMZ und CuL_{imz}1 demonstriert werden, dass sich durch ein starres Ligandendesign neben der katalytischen Effizienz auch die Substratvielfalt verringert.

Weiterführende Studien sollten demnach die Flexibilität der Liganden berücksichtigen. Zwingend erforderlich für ein besseres Verständnis des Mechanismus, ist die Isolierung und Charakterisierung von Zwischenstufen, um infolgedessen effiziente Katalysatoren entwickeln zu können. Anhand der in dieser Arbeit diskutierten Katalysatoren, war es nur bedingt möglich, Aussagen über mögliche Intermediate zu treffen. Ein großes Potential könnten hingegen binukleierende Liganden besitzen, die zwei präorientierte Kupfer-Atome enthalten und somit zu einer Stabilisierung der reaktiven Intermediate des Tyrosinase-Zyklus führen könnten (Abbildung 11.6). Essentiell ist jedoch bei der Entwicklung von binukleierenden Liganden zu beachten, dass die Ausbildung von mononuklearen Komplexen nicht bevorzugt ist. Die Einführung eines starren Spacers in die

Verbrückungseinheit der beiden Stickstoffdonoren könnte möglicherweise die Ausbildung eines mononuklearen Kupfer-Komplexes vermeiden.

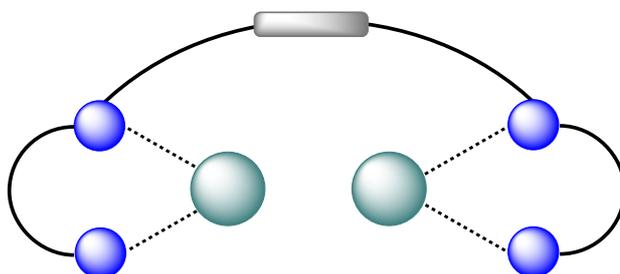


Abbildung 11.6: Schematische Darstellung für ein mögliches Design eines Tyrosinase Modellkomplexes. Farbcode: blau: N; türkis: Cu; grau: symbolisiert einen starren Spacer.

Zu diesem Zweck sollten vorab DFT-Studien durchgeführt werden, um ein Modellsystem zu entwickeln, welches die oben genannten Aspekte berücksichtigt und um vor Synthesebeginn eine Auswahl geeigneter Liganden treffen zu können.

Einen weiteren interessanten Aspekt stellen die Arbeiten von Lumb *et al.*^[160, 163] dar, in denen eindrucksvoll demonstriert wurde, dass mit einem geringfügigen Überschuss des Liganden Di-*tert*-butylethylendiamin (DBED) und dem Präkursor Tetrakis(acetonitril)-kupfer(I)hexafluorophosphat monophenolische Substrate in die entsprechenden *ortho*-Chinone überführt werden konnten. Die bis zu diesem Zeitpunkt in der Literatur veröffentlichten Modellsysteme der Tyrosinase verliefen bis dato nur dann katalytisch, wenn ein Überschuss an Triethylamin hinzugefügt wurde, da die Base zum einen dazu dient die Substrate zu deprotonieren und zum anderen als Protonenshuttle während der Katalyse fungiert.

Somit könnte durch den Einsatz einer *internen* Base, welche im Ligandengerüst verankert ist, der externe Zusatz einer Base komplett vermieden werden (Abbildung 11.7). Das hätte den Vorteil, dass während der Katalyse weniger unerwünschte Nebenprodukte entstehen, die möglicherweise umsatzlimitierend sind. Als mögliche Basenfunktionen könnten sich primäre Amine oder Aminosäuren wie beispielsweise Alanin bewähren.

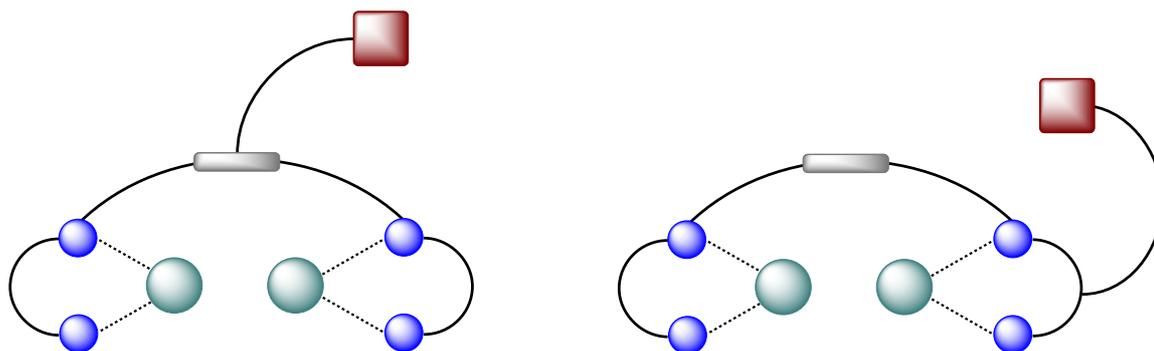


Abbildung 11.7: Schematische Darstellung für mögliche Designs von Tyrosinase Modellkomplexen mit interner Base. Farbcode: blau: N; türkis: Cu; grau: symbolisiert einen starren Spacer; rot: interne Basenfunktion.

12 Durchgeführte Synthesen

12.1 Allgemeine Arbeitstechniken

Für alle Synthesen, die den Ausschluss von Sauerstoff und/oder Wasser erforderlich machten, wurden *Standard-Schlenkarbeitstechniken* unter Schutzgasatmosphäre (Argon 4.6, Stickstoff 5.0) angewandt. Die Probenvorbereitung und die Lagerung wasser- und sauerstoffempfindlicher Substanzen und Produkte erfolgte in einer Glovebox (Labmaster 130) der Firma M. Braun, welche mit Stickstoff 5.0 betrieben wurde. Die eingesetzten Chemikalien wurden von Sigma-Aldrich und ABCR bezogen und in handelsüblicher Qualität ohne weitere Aufreinigung verwendet. Bei den UV/Vis-spektroskopischen Messungen wurde mit Lösungsmitteln der Reinheit *pro analysis* gearbeitet. Lösungsmittel, die für Synthesen eingesetzt wurden, die unter aeroben und wasserfreien Bedingungen stattfanden, wurden unter Schutzgasatmosphäre (Argon 4.6, Stickstoff 5.0) mit folgenden Trocknungsmitteln destillativ getrocknet:

- Aceton über Calciumsulfat
- Dichlormethan, Acetonitril und Toluol über Calciumhydrid
- Methanol über Magnesium
- Tetrahydrofuran über Lithiumaluminiumhydrid
- Ether über Calciumchlorid und anschließend über Natrium destilliert
- Ethanol über Natrium

12.2 Geräte und Methoden

12.2.1 Chromatographie

Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit Kieselgel der Firma Merck. Die Korngröße der stationären Phase betrug 0.04 – 0.063 mm. Zur Evaluierung des Laufmittels wurde die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten der Firma Macherey-Nagel (Kieselgel 60 F254) durchgeführt. Außerdem wurde das Flash-Aufreinigungssystem Isolera™ der Firma Biotage verwendet.

12.2.2 NMR-Spektroskopie

Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem AVANCE 400 Puls Fourier Transform-Spektrometer der Firma Bruker bei einer ^1H -Frequenz von 400.13 MHz und einer ^{13}C -Frequenz von 110.62 MHz aufgenommen. Alle Spektren wurden bei einer Temperatur von 300 K gemessen. Die Referenzierung erfolgte auf die Referenzsignale der deuterierten Lösungsmittel, die von der Firma Deutero GmbH bezogen wurden (Tabelle 12.1).

Tabelle 12.1: Referenzierung der NMR-Spektren für unterschiedliche Lösungsmittel.

Deuterierte Lösungsmittel	Signal im ^1H -NMR	Signal im ^{13}C -NMR
CDCl_3	7.26 ppm	77.16 ppm
CD_3OD	3.31 ppm	49.00 ppm
$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	2.05 ppm	29.84 ppm
D_2O	4.79 ppm	-
CD_3CN	1.94 ppm	118.26

Außerdem standen für die NMR-spektroskopischen Messungen ein Bruker DRX 500 der spektroskopischen Abteilung der Organischen Chemie zur Verfügung mit einer ^1H -Frequenz von 500.13 MHz und einer ^{13}C -Frequenz von 125.78 MHz sowie ein Bruker AC 200 mit einer ^1H -Frequenz von 200.1 MHz und einer ^{13}C -Frequenz von 50.3 MHz.

12.2.3 UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Absorptionsspektren wurden in Lösung an einem 8453-UV/Vis-Spektralphotometer der Firma Agilent Technologies aufgenommen. Das Gerät verfügt über einen Messbereich von 190 nm bis 1100 nm mit einer Abweichung des Wellenlängenbereichs von ± 0.5 nm und einer Wellenreproduzierbarkeit von ± 0.2 nm. Die Messungen fanden in einer Quarzküvette mit der Schichtdicke von 1 cm bzw. 1 mm statt.

Die spektroskopische Verfolgung der Tieftemperatur-Oxygenierungen erfolgte mit einem Cary5000 UV/Vis-NIR-Spektrometer der Firma Varian sowie einem CryoVac Konti Kryostat mit einer Schichtdicke von 1 cm. Der Messbereich des Spektrometers betrug 200 nm bis 3300 nm mit einer Abweichung des Wellenlängenbereichs von ± 0.1 nm. Es wurde mittels flüssigem Stickstoff bis zu einer Temperatur von -100 °C gekühlt.

12.2.4 Fluoreszenzspektroskopie

Die Fluoreszenzspektren wurden mit einem Perkin Elmer LS55 Spektrometer durchgeführt. Die Messungen fanden in Methanol mit einer Schichtdicke von 1 cm statt.

12.2.5 Schwingungsspektroskopie

12.2.5.1 IR-Spektroskopie

Die Messungen der MIR-Spektren in einem Wellenlängenbereich von 400 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} wurden mit einem Platinum ATR-Gerät Alpha-P der Firma Bruker aufgenommen. Die Auflösung betrug 2 cm^{-1} .

12.2.5.2 Raman-Spektroskopie

Die erhaltenen Raman-Spektren wurden mit einem IFS 66/CS FT-IR-Spektrometer mit dem Vorsatz FRA der Firma Bruker gemessen. Der Messbereich befand sich zwischen 20 cm^{-1} und 3300 cm^{-1} mit einer Auflösung von 2 cm^{-1} . Zur Anregung diente ein 350 mW-NdYAG-Laser der Firma Adlas mit einer Wellenlänge von 1064 nm.

12.2.6 Elementaranalytik

Die Elementaranalysen der Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel wurden mit einem CHNS-O-Elementaranalysator Euro EA 3000 der Firma Euro Vector

durchgeführt. Hierfür wurden die Proben in Zinntöpfchen eingewogen und anschließend im Sauerstoffstrom verbrannt. Sauerstoff- und wasserempfindliche Proben wurden in der Glovebox eingewogen.

12.2.7 Massenspektrometrie

12.2.7.1 EI- und CI-Massenspektren

Die Massenspektren, erhalten durch Elektronenstoßionisation (EI) und chemische Ionisation (CI), wurden mit einem Massenspektrometer MAT 8200 (EI, 70 eV) / MAT 8230 (CI, Isobutan) der Firma Finnigan aufgenommen.

12.2.7.2 ESI-Massenspektren

Die Aufnahmen der ESI-Massenspektren erfolgten an einem ESI-Massenspektrometer MarinerTM 5280 der Firma Applied Biosystems.

12.2.7.3 MALDI-TOF-Massenspektren

MALDI-TOF-Spektren wurden an einem MALDI-TOF-Massenspektrometer Biflex III der Firma Bruker-Daltonics mit einer Beschleunigungsspannung von 19 kV und einer Wellenlänge des Ionisationslasers von 337 nm aufgenommen. Als Matrix wurde 4-Chlor- α -cyanozimtsäure (CI-CCA) verwendet.

12.2.8 Röntgenpulverdiffraktometrie

Die Pulverdiffraktogramme wurden mit einem Stoe Stadi-P Pulverdiffraktometer mit Cu-K α -Strahlung (1.54051 Å) und einem Germanium (111) Monochromator in Transmissionsgeometrie aufgenommen. Als Detektor wurde ein MYTHEN 1K Detektor verwendet. Die Pulverdiffraktogramme wurden in einem Bereich von 5-90 °2 θ aufgenommen.

12.2.9 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

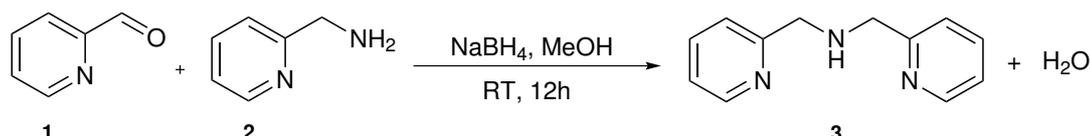
Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Kupfer diente ein Philipps ESEM XL 30 Rasterelektronenmikroskop, welches mit einem EDX-Detektor gekoppelt ist. Unter Hochvakuum konnten bei einer Spannung von 20 kV und einer Stromstärke von 33 Å Proben hinsichtlich ihrer Zusammensetzung untersucht werden.

12.2.10 Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

Zur quantitativen Bestimmung von Kupfer in wässriger saurer Lösung wurde das Spektrometer AAnalyst 300 der Firma Elmer verwendet, welches mit dem Autosampler AS-90 ausgestattet ist. Hierzu wurde die zu untersuchende Probelösung in die Gasphase überführt und die elementspezifische Wechselwirkung zwischen Strahlung und Spektrallinie durch Schwächung der Strahlungsintensität gemessen.

12.3 Synthesen zur Darstellung eines Modellsystems der Galactose Oxidase

12.3.1 Synthese von Bis-(2-pyridylmethyl)amin (3)



2-Pyridincarboxyaldehyd (**1**) (7.88 g, 7.00 mL, 73.6 mmol) wurden in Methanol (80 mL) gelöst und unter Eiskühlung zu 2-Pyridylmethylamin (**2**) (7.96 g, 7.60 mL, 73.6 mmol) hinzugefügt. Nach Entfernen des Eisbades wurde das Reaktionsgemisch für 1 h bei Raumtemp. gerührt. Unter erneuter Eiskühlung wurde portionsweise Natriumborhydrid (2.78 g, 73.5 mmol) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch für weitere 12 h bei Raumtemp. gerührt. Es fand ein Farbumschlag von orange nach hellgelb statt. Durch anschließendes Zufügen von konz. HCl wurde die Reaktion gequencht, bis ein pH-Wert von 4 erreicht wurde. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand mit dest. Wasser (25 mL) aufgenommen. Um die verbleibenden Edukte zu entfernen, wurde die wässr. Phase mit Dichlormethan (achtmal mit je 15 mL) extrahiert, bis die org. Phase farblos war. Die wässr. Phase wurde durch Zugabe von Natriumcarbonat auf pH = 10 eingestellt. Der hierbei entstandene Niederschlag wurde durch Zugabe von dest. Wasser in Lösung gebracht und das Produkt **3** mit Dichlormethan (sechsmal mit je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein dunkelgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 10.9 g (54.5 mmol, 74 %)

Lit.^[70]: 60 %

Elementaranalyse (C₁₂H₁₃N₃):

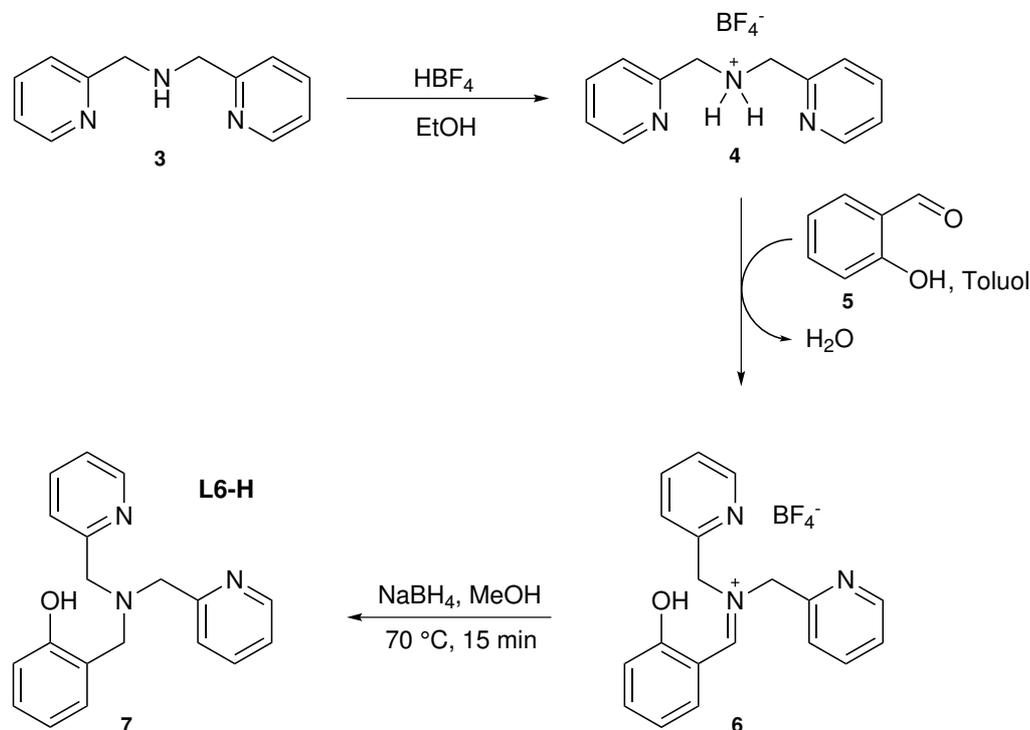
	C %	H %	N %
berechnet	72.33	6.58	21.09
gefunden	69.55	6.49	20.26

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 8.52 (d, J = 4.3 Hz, 2H, Pyridin H-6), 7.62 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 2H, Pyridin H-4), 7.37 (d, J = 7.8 Hz, 2H, Pyridin H-3), 7.15 (dd, J = 6.8, 5.1 Hz, 2H, Pyridin H-5), 4.10 (s, 4H, CH₂-NH-CH₂) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 156.8 (C, 2C, Pyridin C-2), 149.4 (CH, 2C, Pyridin C-6), 136.8 (CH, 2C, Pyridin C-4), 122.8 (CH, 2C, Pyridin C-2), 122.6 (CH, 2C, Pyridin C-5), 53.4 (CH₂, 2C, CH₂-NH-CH₂) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3058, 3011 (m, arom. CH-Val.), 2937, 2840 (m, aliph. CH-Val.), 1643, 1581 (w-s, C=N, C=C-Streckschwing.), 1517, 1469 (m, C-H, C=C-Streckschwing. arom. Syst.), 1434 (s, aliph. CH₂-Val.), 1151, 1049 (s, CH-Deformationsschwing.), 991 (s, C=C, C=N-Val. Pyridine) cm⁻¹.

12.3.2 Synthese von *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)-amin (L6-H, 7)



Es wurde eine Lösung aus Bis-(2-pyridylmethyl)amin (**3**) (3.21 g, 2.90 mL, 16.1 mmol) in Ethanol (80 mL) hergestellt und langsam Tetrafluorborsäure (48 % in Wasser; 3.09 g, 4.40 mL, 35.2 mmol) hinzugegeben. Die hier verwendete Menge Ethanol entspricht nicht dem Mengenverhältnis, welches in der Literatur angegeben wurde, da sich heraus stellte, dass ein größerer Überschuss Ethanol die Fällung von Di-(2-picolyl)ammonium-tetrafluoroborat (**4**) begünstigt. Es fiel ein blassgelber Feststoff aus, der abfiltriert und mit Ethanol (20 mL) gewaschen wurde. Das erhaltene Di-(2-picolyl)ammonium-tetrafluoroborat (**4**) wurde ohne Aufreinigung im nächsten Syntheseschritt eingesetzt.

Ausbeute: 4.64 g, (16.1 mmol, ~100 %)

Zu einer Suspension aus Di-(2-picolyl)ammoniumtetrafluoroborat (**4**) (4.64 g, 16.1 mmol) gelöst in abs. Toluol (80 mL) wurde Salicylaldehyd (**5**) (2.95 g, 5.52 mL, 24.2 mmol, 1.5 Äq.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch unter Stickstoffatmosphäre 3 h unter Rückfluss am Wasserabscheider erhitzt. Der entstandene farblose Niederschlag wurde

abfiltriert und i. Vak. getrocknet. *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)-iminiumtetrafluoroborat (**6**) wurde als farbloser Feststoff erhalten und ohne Aufreinigung im nächsten Syntheseschritt verwendet.

Ausbeute: 3.37 g (18.6 mmol, 54 %)

Zu einer Lösung aus *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)-iminiumtetrafluoroborat (**6**) (3.37 g, 18.6 mmol) in Methanol (100 mL) wurde langsam unter Eiskühlung portionsweise Natriumborhydrid (587 mg, 15.5 mmol, 1.8 Äq.) hinzugefügt. Der Reaktionsansatz wurde für 15 min bei 70 °C erhitzt und anschließend auf ca. 10 mL am Rotationsverdampfer eingengt. Der hierbei ausgefallene Niederschlag wurde durch Zugabe von dest. Wasser (30 mL) gelöst und anschließend mit Diethylether (viermal mit je 50 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über NaSO₄ getrocknet und das Produkt **7** i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Es wurde ein dunkelgelbes Öl erhalten, welches mehrere Tage im Vakuum getrocknet wurde, bis es auskristallisierte.

Ausbeute: 3.24 g (10.6 mmol, 46 %)

Lit.^[69]: 51 %

Elementaranalyse (C₁₉H₁₉N₃O):

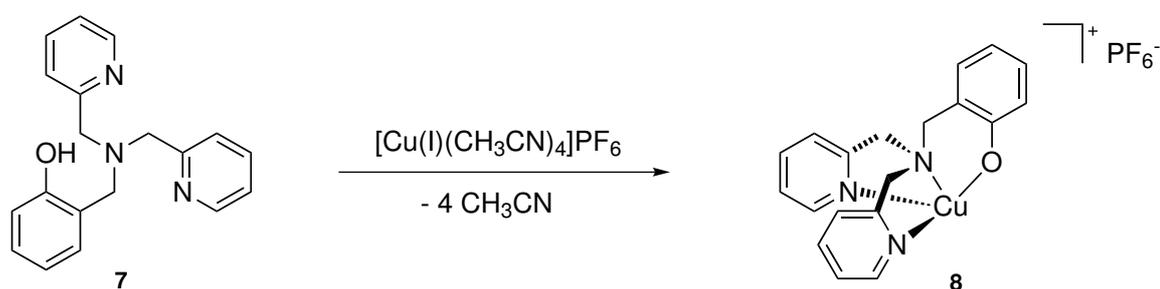
	C %	H %	N %
berechnet	74.73	6.27	13.76
gefunden	74.71	6.26	13.94

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 8.56 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H, Pyridin H-6), 7.63 (dt, *J* = 13.9, 5.9 Hz, 2H, Pyridin H-4), 7.34 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, Pyridin H-3), 7.16-7.06 (m, 3H, Pyridin H-5, Phenol H-3), 7.06 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, Phenol H-5), 6.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Phenol H-4), 6.77 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, Phenol H-6), 3.87 (s, 4H, N-CH₂-Pyridin), 3.79 (s, 2H, N-CH₂-Phenol) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 158.4 (C, 2C, Pyridin C-2), 157.7 (C, 1C, Phenol C-1), 149.0 (CH, 2C, Pyridin C-6), 136.9 (CH, 2C, Pyridin C-4), 130.3 (CH, 1C, Phenol C-3), 129.2 (CH, 1C, Phenol C-5), 123.4 (C, 1C, Pyridin C-3), 122.9 (CH, 2C, Phenol C-2), 122.4 (CH, 2C, Pyridin C-5), 119.0 (CH, 1C, Phenol C-4), 116.7 (CH, 1C, Phenol C-6), 59.2 (CH₂, 2C, N-CH₂-Pyridin), 57.1 (CH₂, 1C, N-CH₂-Phenol) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3015 (m, arom. CH-Val.), 2933, 2801 (m, aliph. CH₂-Val.), 2704, 1370 (m, OH-Val.), 1370(s, Komb. von OH-Deformationsschwing. und CO-Streckschwing.), 1580 (s, NR₃-Val.), 1488 (s, arom. CN-Val.), 1423 (s, CH-Deformationsschwing.), 1370, 1147 (s, OH-Deformationsschwing.), 752 (s, CH-Deformationsschwing., 2-substituierte Pyridin) cm⁻¹.

12.3.3 Synthese von [Cu(I)L6]PF₆ (8)



Die Synthese von $[\text{Cu(I)}\text{L6}]\text{PF}_6$ (**8**) wurde unter Schlenkbedingungen durchgeführt. *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)amin (**7**) (**L6-H**) (100 mg, 327 μmol) wurde in abs. Acetonitril (5 mL) gelöst und eine Lösung aus Tetrakis(acetonitril)-kupfer(I)hexafluorophosphat (122 mg, 327 μmol) gelöst in abs. Acetonitril (5 mL) langsam hinzugegeben. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelber, kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 138 mg, (268 μmol , 82 %)

Lit.^[67]: 67 %

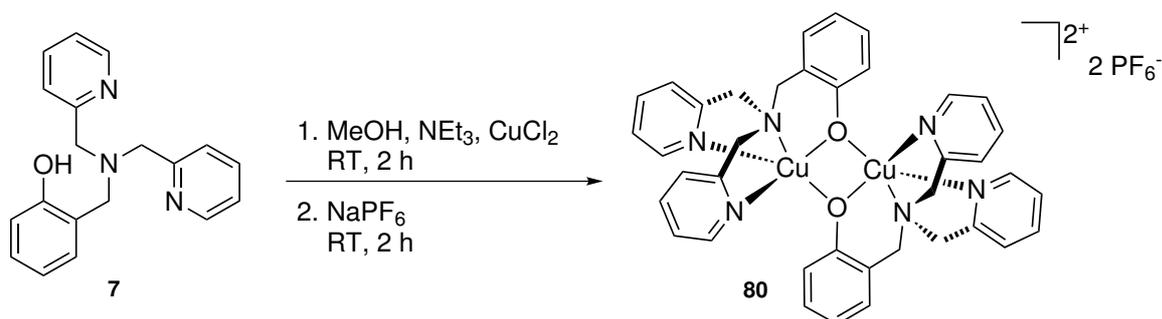
Elementaranalyse (C₁₉H₁₈CuF₆N₃OP):

	C %	H %	N %
berechnet	44.49	3.54	8.19
gefunden	44.13	3.43	7.84

Es wurde in verschiedenen Lösungsmitteln versucht, ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren zu erhalten, jedoch wandelte sich die Verbindung innerhalb weniger Minuten nach dem Lösen in eine paramagnetische Spezies um, so dass keine NMR-Spektren erhalten werden konnten.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2935 (w, CH₂-Val.), 1613 (m, arom. C=N-Val.), 1592 (s, NR₃-Val.), 1478, (s, arom. CN-Val.), 1452, 1432 (s, arom. CN-Val.), 1271, 1154, (s, OH-Deformationsschwing.), 894 (s, arom. C=C-Val.), 826 (s, PF₆-Val.) 756 (s, CH-Deformationsschwing., 2-substituierte Pyridine) cm⁻¹.

12.3.4 Synthese von [Cu₂(L6)₂](PF₆)₂ (**80**)



Für die Darstellung von [Cu₂(L6)₂](PF₆)₂ (**80**) wurde nach einer Vorschrift von M. Rolff^[67] verfahren. *N*-(2-Hydroxyphenyl)-methyl-bis-(2-picolyl)amin (**7**) (**L6-H**) (241 mg, 789 μ mol) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und Triethylamin (79.8 mg, 109 μ L, 789 μ mol) zur Deportierung des Alkohols hinzugefügt. Anschließend wurde die Lösung mit Kupfer(II)chlorid (106 mg, 789 μ mol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend Natriumhexafluorophosphat (245 mg, 1.58 mmol, 2 Äq.) hinzugefügt. Der Ansatz wurde für weitere 2 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend auf dest. Wasser (100 mL) gegeben. Der ausfallende grüne Feststoff wurde abfiltriert und mit dest. Wasser (10 mL) und Diethylether (10 mL) gewaschen. Das grüne Produkt **80** wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Diethylether umkristallisiert.

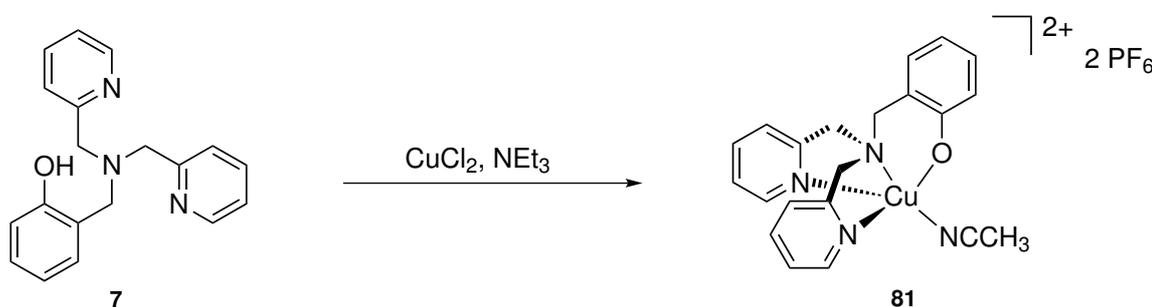
Ausbeute: 291 mg, (284 μ mol, 36 %)

Elementaranalyse (C₃₈H₃₆Cu₂F₁₂N₆O₂P₂):

	C %	H %	N %
berechnet	44.49	3.54	8.19
gefunden	45.83	3.61	8.70

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2917 (w, CH₂-Val.), 1620 (m, arom. C=N-Val.), 1589 (w, NR₃-Val.), 1481, (s, arom. CN-Val.), 1450, 1432 (s, arom. CN-Val.), 1270, 1151, (s, OH-Deformationsschwing.), 890 (s, arom. C=C-Val.), 824 (s, PF₆-Val.) 753 (s, CH-Deformationsschwing., 2-substituierte Pyridine) cm⁻¹.

UV/Vis (Acetonitril, *l* = 1 cm): λ_{\max} (ϵ) = 442 nm (275 Lmol⁻¹cm⁻¹), > 800 nm.

12.3.5 Synthese von [Cu(II)(L6)(CH₃CN)](PF₆)₂ (81)


Zu einer Lösung, bestehend aus *N*-(2-Hydroxyphenyl)methyl-bis-(2-picolyl)amin (**7**) (**L6-H**) (100 mg, 330 μ mol) und Triethylamin (33.4 mg, 45.7 μ mol, 330 μ mol) in Methanol (10 mL), wurde Kupfer(II)chlorid (44.0 mg, 330 μ mol) portionsweise hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde 4 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend Natriumhexafluorophosphat (110 mg, 660 μ mol, 2 Äq.) langsam hinzugefügt. Nach weiteren 2 h wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand mit Wasser und *n*-Hexan gewaschen (je 10 mL). Es wurde ein grünes Pulver erhalten.

Ausbeute: 87.5 mg, (158 μ mol, 48 %)

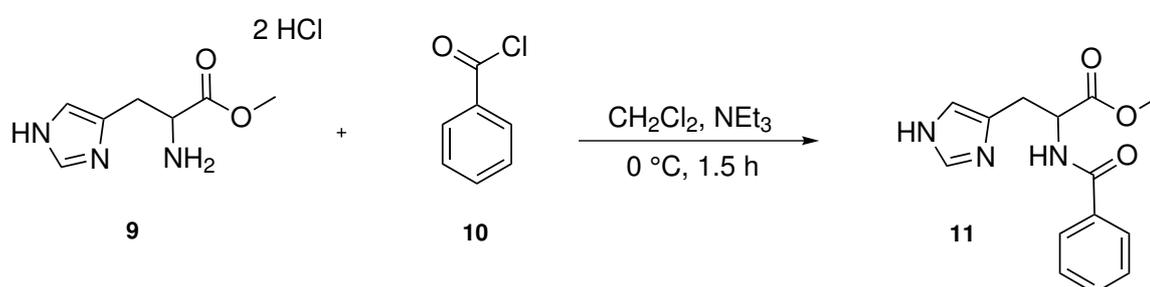
Elementaranalyse (C₂₁H₂₁CuF₆N₄OP):

	C %	H %	N %
berechnet	45.53	3.82	10.11
gefunden	45.15	3.46	9.82

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2929 (w, CH₂-Val.), 1613 (m, arom. C=N-Val.), 1596 (m, NR₃-Val.), 1481, (s, arom. CN-Val.), 1483, 1449, 1428 (s, arom. CN-Val.), 1279, 1151, (s, OH-Deformationsschwing.), 896 (w, arom. C=C-Val.), 829 (s, PF₆-Val.) 756 (s, CH-Deformationsschwing., 2-substituierte Pyridine) cm⁻¹.

12.4 Synthese und Syntheseversuche von Modellsystemen basierend auf einer Kombination aus Imin- und Oxazolin-Funktion

12.4.1 Synthese von Methyl-2-benzamido-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propionat (**11**)



Methyl-2-benzamido-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propionat (**11**) wurde nach variiertem Vorschrift von HELMCHEN *et al.*^[175] synthetisiert. Zu einer Lösung aus Histidinmethylesterdihydrochlorid (**9**) (8.00 g, 33.0 mmol) und Triethylamin (6.68 g, 9.10 mL, 66.0 mmol) in abs. Chloroform (80 mL) wurde bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ eine Lösung aus Benzoylchlorid (**10**) (4.64 g, 3.80 mL, 33.1 mmol), gelöst in Chloroform (50 mL), über einen Zeitraum von 30 min langsam hinzugegeben. Das Lösungsmittel und der Überschuss an Triethylamin wurden i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in wenig ges. NaHCO_3 -Lösung aufgenommen und mit Chloroform (fünfmal mit je 25 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über NaSO_4 getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das blassgelbe Rohprodukt **11** wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Methanol 8:1, R_f -Wert: 0.29). Es wurde ein farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 5.10 g (16.8 mmol, 41 %)

Lit.^[175]: 77 %

Elementaranalyse (C₁₄H₁₅N₃O₃):

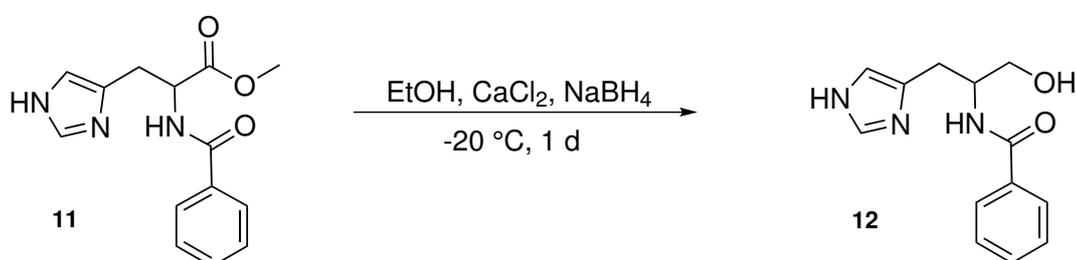
	C %	H %	N %
berechnet	61.53	5.53	15.38
gefunden	61.62	5.78	15.59

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 7.79 (m, 2H, Phenyl H-2, H-6), 7.61 (d, J = 1.2 Hz, 1H, Imidazol H-2), 7.56-7.41 (m, 3H, Phenyl H-3, H-4, H-5), 6.90 (d, J = 1.0 Hz, 1H, Imidazol H-5), 4.87 (m, 1H, CH₂-CH(-NH)-C(=O)-O), 3.24 (dd, J = 14.8, 5.4, 1H, CH₂-CH(-NH)-C(=O)-O), 3.15 (dd, J = 14.9, 8.7 Hz, 1H, CH₂-CH(-NH)-C(=O)-O) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 173.5 (C, 1C, C(=O)-O-CH₃), 170.2 (C, 1C, NH-C(=O)-C_{Phenyl}), 136.4 (C, 1C, Phenyl C-1), 135.1 (CH, 1C, Imidazol C-2), 135.0 (CH, 1C, Phenyl C-4), 132.9 (C, 1C, Imidazol C-4), 129.5 (CH, 2C, Phenyl C-3, C-5), 128.4 (CH, 2C, Phenyl C-2, C-6), 117.9 (CH, 1C, Imidazol C-5), 54.7 (CH₃, 1C, C(=O)-O-CH₃), 52.8 (CH₂, 1C, CH₂-CH(-NH)-C(=O)-O), 29.9 (CH₃, 1C, C_{Imidazol}-CH₂-C(-NH)-C(=O)-O-CH₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3158 (m, NH-Val.), 3010, 2948, 2902 (m, CH-Val.), 1732 (s, C=O-Streckschwing.), 1630, (s, C=O-Streckschwing. sek. Amide), 1548 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1334, 1289, 1174, 1085, 1036, 703 (v, CH-Val.) cm⁻¹.

12.4.2 Synthese von *N*-(1-Hydroxy-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propan-2-yl)-benzamid (**12**)



Unter Schlenkbedingungen wurde Methyl-2-benzamido-3-(1*H*-imidazol-4-yl)-propionat (**11**) (4.51 g, 14.9 mmol) und CaCl₂ (2.47 g, 22.3 mmol) in Ethanol (120 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf -20 °C gekühlt und portionsweise über einen Zeitraum von 3.5 h NaBH₄ (1.69 g, 44.6 mmol) hinzugefügt, bis eine Suspension entstanden ist. Die Lösung wurde im Anschluss 29 h bei -20 °C gerührt. Darauffolgend wurde die Lösung auf 0 °C erwärmt, mit Methanol (14 mL) versetzt und weitere 20 min gerührt. Anschließend wurde dest. Wasser (14 mL) hinzugefügt und unter Kühlung bei 0 °C 1 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 2 M HCl auf pH = 1 angesäuert, bis der Niederschlag sich wieder löste und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Das Gemisch wurde mit 2 M NaOH auf pH = 7-8 gebracht, die unlöslichen Hydroxide abfiltriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein blassgelber Feststoff erhalten, welcher säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wurde (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Methanol 2:1, R_F-Wert: 0.45). Es wurde ein farbloser Feststoff von **12** erhalten.

Ausbeute: 3.18 g (12.9 mmol, 87 %)

Lit.^[175]: 98 %

Elementaranalyse(C₁₃H₁₅N₃O₂):

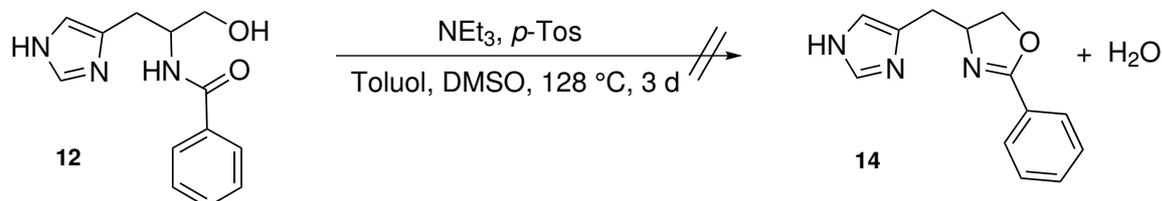
	C %	H %	N %
berechnet	63.66	6.16	17.13
gefunden	60.72	6.10	18.06

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 7.72 (s, 1H, Imidazol H-2), 7.30-7.19 (m, 2H, Phenyl H-2, H-6), 6.84-6.82 (m, 1H, Phenyl H-4), 8.81-6.76 (m, 2H, Phenyl H-3, H-4), 6.44 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.62-3.52 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{-CH}_2\text{-OH})\text{-NH}$) 2.90-2.78 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{-CH}_2\text{-OH})\text{-NH}$), 2.36-2.22 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{-CH}_2\text{-OH})\text{-NH}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 166.1 (C, 1C, $\text{NH-C(=O)-C}_{\text{Phenyl}}$), 134.5 (C, 1C, Phenyl C-1), 133.7 (CH, 1C, Imidazol C-2), 132.1 (C, 1C, Imidazol C-4), 131.1 (CH, 1C, Phenyl C-4), 128.1 (CH, 2C, Phenyl C-3, C-5), 127.4 (CH, 2C, Phenyl C-2, C-6), 116.8 (CH, 1C, Imidazol C-5), 62.7 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{-CH}_2\text{-OH})\text{-NH}$), 51.3 (CH, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{-CH}_2\text{-OH})\text{-NH}$), 48.6 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{-CH}_2\text{-OH})\text{-NH}$) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3308 (bs, NH-Val.), 1620, (s, C=O-Streckschwing. sek. Amide), 1548 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1458, 1296, 1081, 1032, 703 (v, CH-Val.) cm^{-1} .

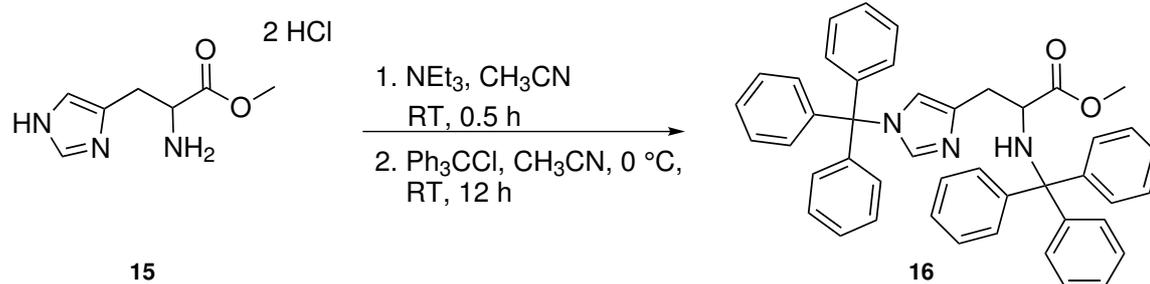
12.4.3 Syntheseversuch von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (14)



Unter Schlenkbedingungen wurde nach einer variierten Vorschrift von HELMCHEN *et al.*^[175] *N*-(1-Hydroxy-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propan-2-yl)benzamid (**12**) (1.56 g, 6.36 mmol) in abs. Toluol (60 mL) suspendiert. Aufgrund der schlechten Löslichkeit wurde zusätzlich DMSO (10 mL) hinzugefügt. Anschließend wurde Triethylamin (1.93 g, 2.60 mL, 19.1 mmol, 3 Äq.) zu der Emulsion gegeben. Das Gemisch wurde auf 130 °C erhitzt. Nach 5 h wurde *p*-Toluolsulfonsäure (1.33 g, 7.00 mmol, 1.1 Äq.) in einer Portion hinzugefügt. Die Emulsion wurde 3 d bei 128 °C unter N_2 -Atmosphäre erhitzt. Zu der abgekühlten Lösung wurde dest. Wasser (5 mL) gegeben, eine weitere Stunde unter Rückfluss erhitzt und mit dest. Wasser (dreimal mit je 10 mL) extrahiert. Die org. Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten.

Eine NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt nicht erhalten wurde.

12.4.4 Synthese von 2-(*R*)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenylmethyl)-imidazol-4(5)-yl]propanol (**16**)



Die Synthese erfolgte nach der Vorschrift von GYNTHÉ *et al.*^[177]. Histidinmethylesterdihydrochlorid (**15**) (15.0 g, 61.7 mmol) wurde in Acetonitril (80 mL) suspendiert, Triethylamin (31.4 g, 42.9 mL, 307 mmol) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde bei 0 °C eine Suspension aus Tritylchlorid (43.2 g, 154.9 mmol) in Acetonitril (600 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in dest. Wasser (250 mL) aufgenommen und 30 min bei Raumtemp. gerührt. Der erhaltene gelbe Feststoff wurde abfiltriert, mit dest. Wasser (20 mL) gewaschen und i. Vak. getrocknet. Das Rohprodukt **16** wurde ohne weitere Aufreinigung im nächsten Syntheseschritt verwendet.

Ausbeute: 40.2 g (61.6 mmol, ~100 %)

Lit.^[177]: ~100 %

Elementaranalyse (C₄₅H₃₉N₃O₂):

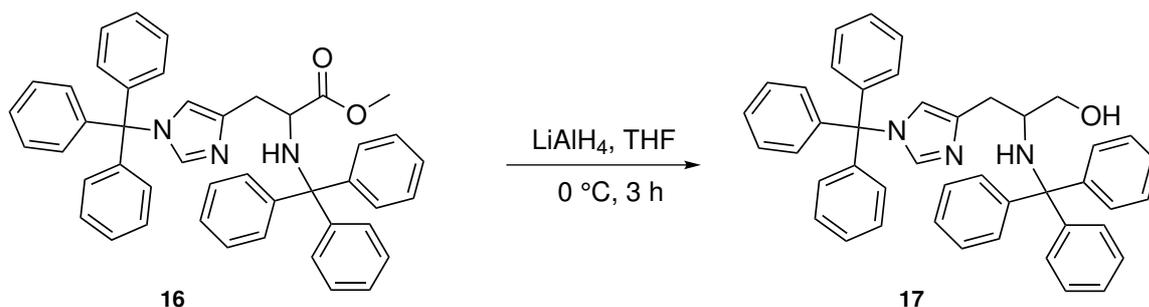
	C %	H %	N %
berechnet	82.67	6.01	6.43
gefunden	82.69	6.81	5.57

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 7.64\text{-}7.10$ (m, 31H, Phenyl-H, Imidazol H-2), 6.64 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.67 (dt, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{C}=\text{O})\text{-NH}$), 3.06 (s, 3H, O- CH_3), 2.98 (dd, $J = 14.1, 6.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{C}=\text{O})\text{-NH}$), 2.81 (dd, $J = 14.1, 6.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{C}=\text{O})\text{-NH}$), 2.72 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, NH-Trityl) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 175.1$ (C, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{C}=\text{O})\text{-NH}$), 147.0 (C, 3C, NH-C-Phenyl C-1), 146.2 (C, 3C, Imidazol-C-Phenyl C-1), 142.5 (CH, 1C, Imidazol C-2), 138.4 (C, 1C, Imidazol C-4), 129.9, 128.9, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.3, 126.4, (CH, 30C, Phenyl C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 119.9 (CH, 1C, Imidazol C-5), 75.4 (C, 1C, Imidazol-C-Phenyl), 71.1 (C, 1C, NH-C-Phenyl), 56.7 (CH, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{C}=\text{O})\text{-NH}$), 51.5 (CH_3 , 1C, O- CH_3), 34.8 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{C}=\text{O})\text{-NH}$) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3055, 3024$ (w, arom. CH-Val.), 2946 (w, aliph. CH_2 -Val.), 1734 (m, CO-Val.) 1437 (m, CH_3 -Deformationsschw. des Esters), 745 und 696 (s, arom. Monosubstitution) cm^{-1} .

12.4.5 Synthese von 2-(*R*)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenylmethyl)-imidazol-4(5)-yl]propanol (17)



Unter Schlenkbedingungen wurde LiAlH_4 (7.93 g, 209 mmol, 3.4 Äq.) in abs. Tetrahydrofuran (250 mL) vorgelegt und 2-(*R*)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenylmethyl)-imidazol-4(5)-yl]propanol (**16**) (40.2 g, 61,6 mmol) langsam portionsweise bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ hinzugefügt. Anschließend wurde tropfenweise eine wässr. NaOH-Lösung (8.61 g, 215 mmol, 1.03 Äq. bezogen auf LiAlH_4 , in 85 mL Wasser) hinzugegeben. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und das entstandene Präzipitat abfiltriert. Das Filtrat wurde i. Vak. eingengt, der entstandene gelbe Feststoff abfiltriert und mit Methanol (15 mL)

gewaschen. Das Rohprodukt **17** wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Essigsäureethylester 1:1, R_f -Wert: 0.34 - 0.80). Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 26.0 g (41.6 mmol, 54 %)

Lit.^[177]: 58 %

Elementaranalyse (C₄₄H₃₉N₃O):

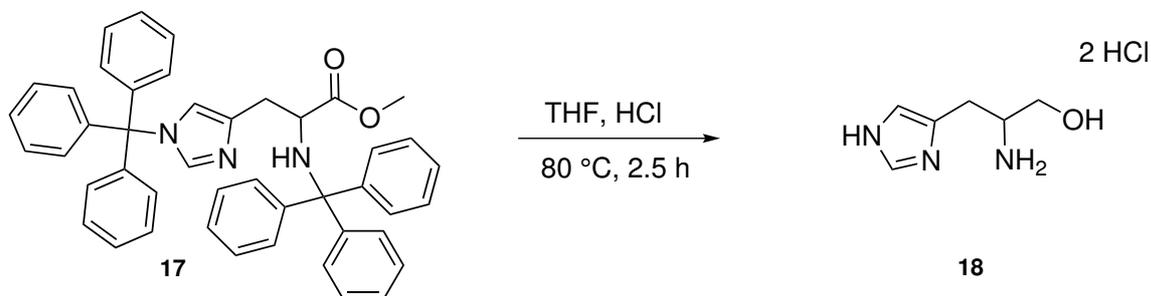
	C %	H %	N %
berechnet	84.45	6.28	6.71
gefunden	84.51	6.50	6.70

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 7.54-7.06 (m, 31H, Phenyl-H, Imidazol H-2), 6.30 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.50 (dd, J = 11.34, 3.19 Hz, 1H, CH₂-OH), 3.02 (dd, J = 11.34, 6.34 Hz, 1H, CH₂-OH), 2.92 (m, 1H, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH), 2.40 (dd, J = 14.47, 2.90 Hz, 1H, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH), 1.95 (dd, J = 14.47, 6.38 Hz, 1H, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 147.1 (C, 3C, NH-C-Phenyl C-1), 142.3 (C, 3C, Imidazol-C-Phenyl C-1), 138.1 (C, 1C, Imidazol C-4), 137.6 (CH, 1C, Imidazol C-2), 129.7, 128.7, 126.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.2, 126.2 (CH, 30C, Phenyl C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 120.4 (CH, 1C, Imidazol C-5), 75.2 (C, 1C, Imidazol-C-Phenyl), 71.0 (C, 1C, NH-C-Phenyl), 65.7 (CH₂, 1C, CH₂-OH), 52.5 (CH, 1C, CH₂-CH(C=O)-NH), 31.7 (CH₂, 1C, CH₂-CH(C=O)-NH) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3369 (w, NH-Val.), 3064 (w, arom. CH-Val.), 2849 (w, aliph. CH₂-Val.), 1588 (w, NH-Val.), 1488 (m, OH-Deformationsschw.), 1042 (m, CO-Val. primärer Alkohol), 749 und 700 (s, arom. Monosubstitution) cm⁻¹.

12.4.6 Synthese von 2-(*R*)-Amino-3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propanol-dihydrochlorid (**18**)



Die Entschützung von 2-(*R*)-(Triphenylmethylamino)-3-[1-(triphenyl-methyl)-imidazol-4(5)-yl]propanol (**17**) erfolgte durch Lösen der reduzierten Spezies **17** (26.0 g, 41.6 mmol) in THF (100 mL) und durch Zugabe von 3 M HCl (100 mL). Das Reaktionsgemisch wurde 2.5 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in dest. Wasser (500 mL) aufgenommen und mit Dichlormethan (sechsmal mit je 30 mL) extrahiert, um das entstandene Triphenylmethanol zu entfernen. Die wässr. Phase wurde mit Hilfe von Ethanol als azeotropes Gemisch entfernt. Der erhaltene farblose Feststoff wurde i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 7.53 g (35.4 mmol, 85 %)

Lit.^[177]: 84 %

Elementaranalyse (C₆H₁₃Cl₂N₃O):

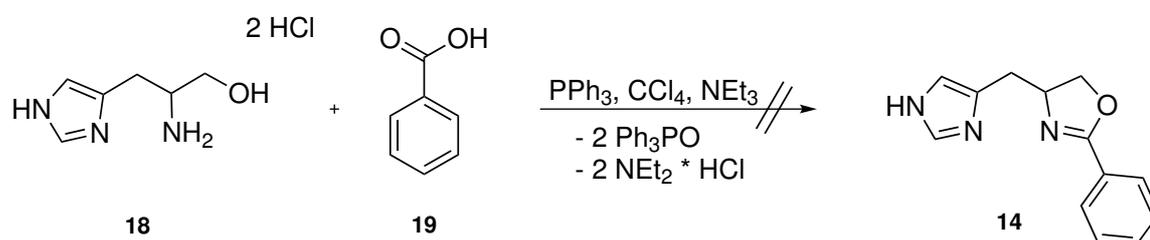
	C %	H %	N %
berechnet	33.66	6.12	19.63
gefunden	33.60	6.53	19.80

¹H-NMR (400 MHz, D₂O, 300 K): δ = 8.73 (s, 1H, Imidazol H-2), 7.48 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.94-3.84 (m, 1H, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH₂), 3.79-3.65 (m, 2H, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH₂), 3.29-3.13 (m, 2H, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH₂) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, D₂O, 300 K): δ = 137.0 (CH, 1C, Imidazol C-2), 130.2 (C, 1C, Imidazol C-4), 120.6 (CH, 1C, Imidazol C-5), 63.7 (CH₂, 1C, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH₂), 54.6 (CH, 1C, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH₂), 27.0 (CH₂, 1C, CH₂-CH(CH₂-OH)-NH₂) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3336$ (m, NH-Val.), 3103-2750 (sb, OH-Val, intramol. Wechselwirkung), 1610 (m, NH₂-Deformationsschw.), 1411 (m, OH-Deformationsschw.), 1042 (s, CO-Val.) cm⁻¹.

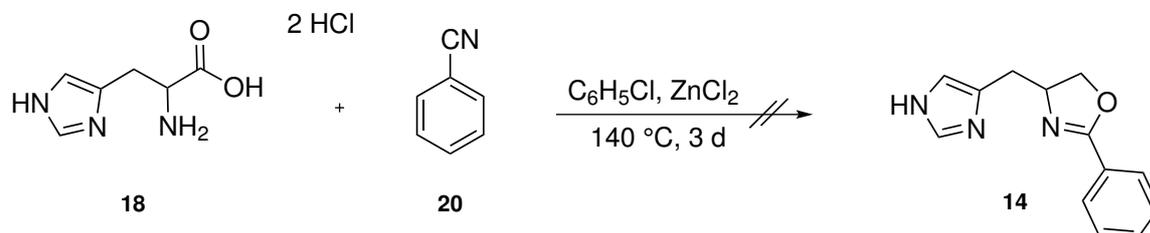
12.4.7 Syntheseversuch von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**)



Die Synthese von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**) erfolgte nach einer Synthesevariante analog zu SMOLIAKOVA *et al.*^[180]. Zu einer Lösung, bestehend aus Histidinol-dihydrochlorid (**18**) (250 mg, 3.50 mmol), Tetrachlorkohlenstoff (538 mg, 340 μ L, 3.50 mmol, 3 Äq.), Triethylamin (354 mg, 490 μ L, 3.50 mmol, 3 Äq.) und Benzoesäure (**19**) (185 mg, 1.52 mmol, 1.3 Äq.), gelöst in einem Gemisch aus Pyridin und Acetonitril (8 mL, 1:1), wurde eine Lösung, bestehend aus Triphenylphosphin (919 mg, 3.50 mmol), gelöst in einem Gemisch aus Pyridin und Acetonitril (8 mL, 1:1), langsam hinzuge tropft. Nach 1 h wurde das Reaktionsgemisch gelb. Nach einer weiteren Stunde konnte ein Farbumschlag nach rotbraun beobachtet werden. Der Reaktionsansatz wurde weitere 23 h bei Raumtemp. unter N₂-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde mit Diethylether (fünfmal mit je 10 mL) extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelber, kristalliner Rückstand erhalten.

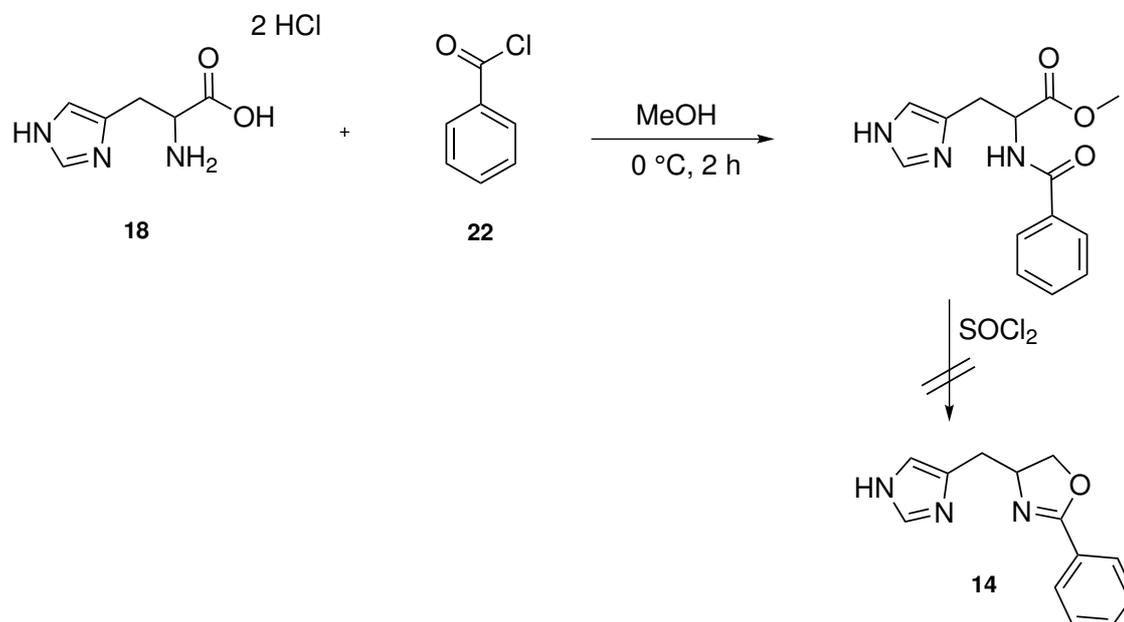
Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass ausschließlich Triphenylphosphin erhalten wurde. Deshalb wurde der rote Rückstand untersucht, um auszuschließen, dass hier das gewünschte Produkt enthalten ist. Die NMR-Spektren und die DC-Kontrolle zeigten, dass mindestens neun unterschiedliche Produkte entstanden sind. Es wurde versucht, diese säulenchromatographisch zu trennen (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Chloroform / Methanol 7:1). Die Aufreinigung war jedoch nicht erfolgreich.

12.4.8 Syntheseversuch von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**)



Die Synthese von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**) erfolgte nach einer Synthesevariante analog zu SMOLIAKOVA *et al.*^[180]. Hierzu wurde Histidinol-dihydrochlorid (**18**) (1.50 g, 7.42 mmol) in Chlorbenzol (23 mL) gelöst und anschließend Benzonitril (**20**) (995 mg, 1.00 mL, 9.65 mmol, 1.3 Äq.) und ZnCl_2 (50.0 mg, 371 μmol) hinzugefügt. Nachdem das Reaktionsgemisch 3 d bei $140\text{ }^\circ\text{C}$ unter N_2 -Atmosphäre gerührt wurde, wurde filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

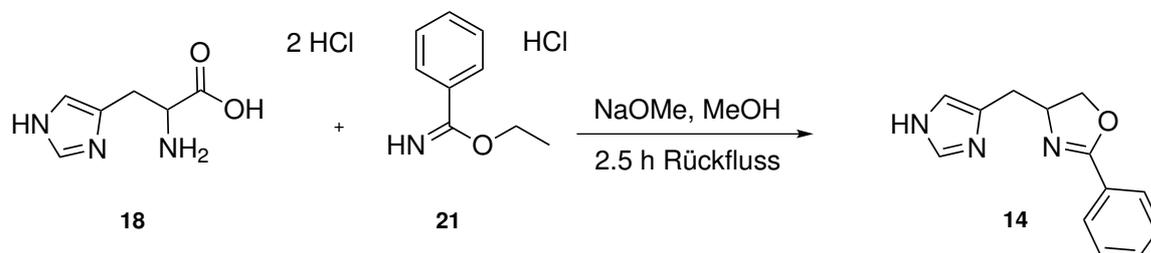
Das gewünschte Produkt konnte auf diesem Syntheseweg nicht erhalten werden, da die Löslichkeit des Histidinol-dihydrochlorids (**18**) in Chlorbenzol sehr begrenzt ist.

12.4.9 Syntheseversuch von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**)

Ein weiterer Syntheseversuch für die Darstellung von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**) wurde nach einer Variation der Vorschrift von MIHELICH *et al.*^[183] durchgeführt. Hierfür wurde Histidinol-dihydrochlorid (**18**) (700 mg, 3.46 mmol) in Methanol (15 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt, anschließend tropfenweise Benzoesäurechlorid (**22**) (490 mg, 400 μ L, 3.50 mmol) hinzugefügt und 2 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Zu dem Rückstand wurde langsam Thionylchlorid (180 mL) hinzugefügt. Nach 1 h wurde die Suspension auf Ether (40 mL) gegeben und das Präzipitat abfiltriert. Der Feststoff wurde mit kalter 20 %-iger Natronlauge (15 mL) versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte ausschließlich die Anwesenheit von Histidinol-dihydrochlorid (**18**) an.

12.4.10 Syntheseversuch von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**L_{OL}1**, **14**)



4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**) wurde nach einer Synthesevariante von PFALTZ *et al.*^[185] hergestellt. Unter Schlenkbedingungen wurde zu einer Lösung aus Histidinol-dihydrochlorid (**18**) (1.50 g, 7.00 mmol) in abs. Methanol (15 mL), Ethylbenzimidat-hydrochlorid (**21**) (1.13 g, 6.10 mmol, 1.3 Äq.) und Natriummethanolat (950 mg, 17.6 mmol, 2.5 Äq.) hinzugefügt. Die Suspension wurde 2.5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde die Suspension filtriert und mit Dichlormethan (20 mL) versetzt. Nach Zufügen einer wässr. NaCO₃-Lösung (20 mL) wurde mit Dichlormethan (dreimal mit je 20 mL) extrahiert, die vereinigten org. Phasen über NaSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, welches säulenchromatisch an Kieselgel gereinigt wurde (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Chloroform / Methanol 9:1, R_F-Wert: 0.10 - 0.26). Das Produkt **14** wurde als blassgelbes Öl erhalten, welches 7 d i. Vak. getrocknet wurde.

Ausbeute: 929 mg (4.09 mmol, 58 %)

Es stellte sich heraus, dass die Reaktion nicht länger als 2.5 h unter Rückfluss erhitzt werden durfte, da sich ab diesem Zeitpunkt das Isomer 5-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol bildete, welches säulenchromatographisch nicht abzutrennen war.

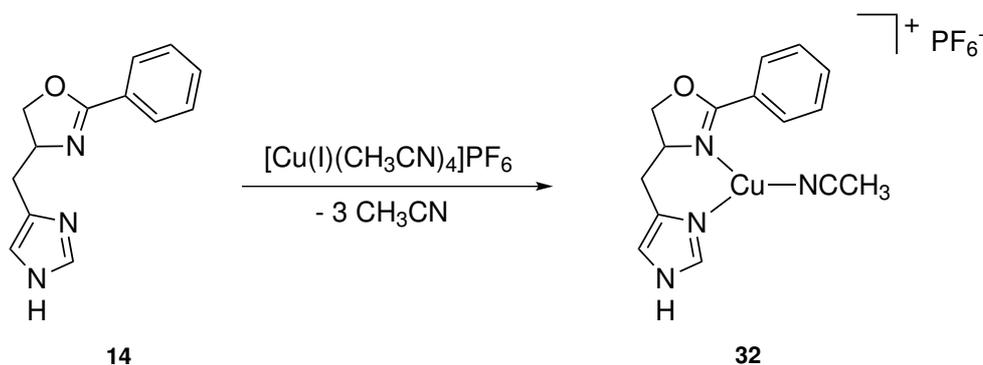
Elementaranalyse (C₁₃H₁₃N₃O):

	C %	H %	N %
berechnet	68.70	5.77	18.49
gefunden	68.33	6.14	18.51

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 7.90 (dd, J = 5.3, 3.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.60 (d, J = 1.0 Hz, 1H, Imidazol H-2), 7.56-7.49 (m, 1H, Ar-H), 7.47-7.41 (m, 2H, Ar-H), 6.88 (s, 1H, Imidazol H-5), 4.60 (m, 1H, O-CH₂-CH-N), 4.48 (dd, J = 9.4, 8.6 Hz, 1H, O-CH₂-CH-N), 4.25 (dd, J = 8.5, 7.3 Hz, 1H, O-CH₂-CH-N), 3.06 (dd, J = 14.6, 5.2 Hz, 1H, Imidazol-CH₂-CH), 2.81 (dd, J = 14.7, 7.9 Hz, 1H, Imidazol-CH₂-CH) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 166.6 (C, 1C, N=C-O), 136.2 (CH, 1C, Imidazol C-2), 134.8 (C, 1C, Imidazol C-4), 133.0 (CH, 1C, Phenyl C-4), 129.6 (CH, 2C, Phenyl C-3, C-5), 129.3 (CH, 2C, Phenyl C-2, C-6), 128.5 (C, 1C, Phenyl C-1), 118.5 (CH, 1C, Imidazol C-5), 73.3 (CH₂, 1C, O-CH₂-CH-N), 67.1 (CH, 1C, O-CH₂-CH-N), 33.7 (CH₂, 1C, Imidazol-CH₂-CH) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3364 (w, NH-Val.), 3070 (w, arom. CH-Val.), 2859 (w, aliph. CH₂-Val.), 1640 (m, Imin-Val.), 700 (s, arom. Monosubstitution) cm⁻¹.

12.4.11 Synthese von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{LOL1})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ (CuLOL1 , **32**)

Unter inerten Bedingungen wurde 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-phenyl-4,5-dihydrooxazol (**14**) (100 mg, 440 μmol) in abs. Acetonitril (8 mL) vorgelegt und Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat (164 mg, 440 μmol), gelöst in abs. Acetonitril (5 mL), unter Rühren tropfenweise zu der Lösung gegeben. Die Reaktionslösung färbte sich gelb und wurde 30 min unter N_2 -Atmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. ergab ein gelbes, kristallines Pulver.

Ausbeute: 193 mg (405 μmol , 92 %).

Elementaranalyse ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$):

	C %	H %	N %
berechnet	37.78	3.38	11.75
gefunden	37.82	3.43	11.83

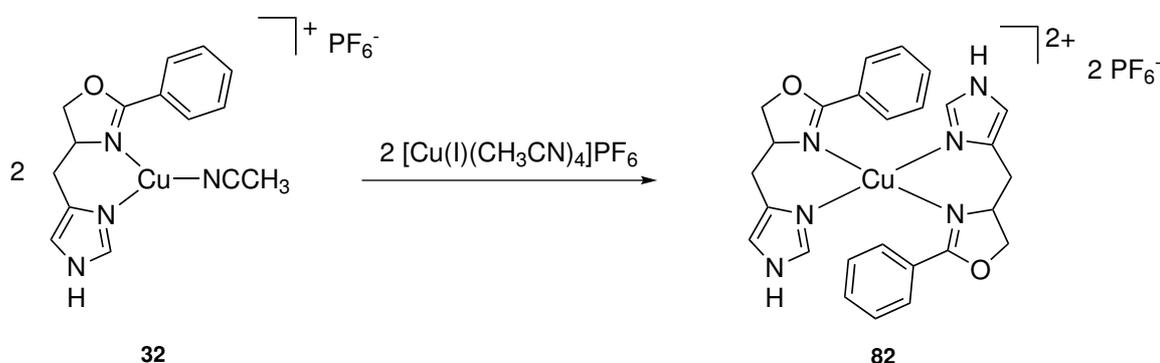
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3CN , 300 K): δ = 8.20 (d, J = 7.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.68-7.34 (m, 4H, Ar-H, Imidazol H-2), 6.93 (s, 1H, Imidazol H-5), 4.80 (q, J = 9.1 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 4.40 (q, J = 10 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 4.14 (dd, J = 9.7 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 2.97 (t, J = 17.2 Hz, 1H, Imidazol- CH_2 -CH), 2.74 (dd, J = 14.8, 11.5 Hz, 1H, Imidazol- CH_2 -CH), 1.96 (s, 3H, NCCCH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CD_3CN , 300 K): $\delta = 166.0$ (C, 1C, N=C-O), 138.5 (C, 1C, Imidazol C-4), 136.5 (CH, 1C, Imidazol C-2), 133.2 (CH, 1C, Phenyl C-4), 129.8 (CH, 2C, Phenyl C-3, C-5), 129.3 (CH, 2C, Phenyl C-2, C-6), 127.4 (C, 1C, Phenyl C-1), 114.2 (CH, 1C, Imidazol C-5), 73.8 (CH_2 , 1C, O- CH_2 -CH-N), 67.7 (CH, 1C, O- CH_2 -CH-N), 33.0 (CH_2 , 1C, Imidazol- CH_2 -CH) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3407$ (m, NH-Val.), 2918 (s, CH-Val.), 1622 (m, C=C-Val.), 1576, 1494 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1379 (m, NCO-Streckschwing. sym.) 1262, 1108, 1026 (w, CH-Deformationsschwing.), 959 (s, arom. C=C-Val.), 825 (s, PF_6^- -Val.) 693 (s, arom. Monosubstitution) cm^{-1} .

Raman: $\tilde{\nu} = 2937$ (s, arom. CH-Val.), 2273 (s, $\text{C}\equiv\text{N}$ -Val.) 1627 (w, C=C, C=N-Val.), 1495, 751 (w, CH-Deformationsschwing. ($-\text{CH}_2$)), 751 (w, CH-Deformationsschwing.) cm^{-1} .

12.4.12 Synthese von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LOL1})_2](\text{PF}_6)_2$ (**82**)



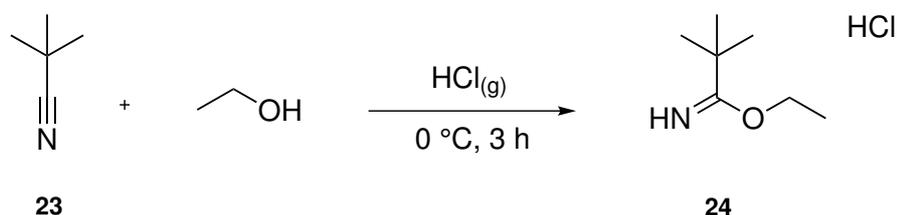
Unter inerten Bedingungen wurde $[\text{Cu}(\text{I})(\text{LOL1})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ (**32**) (35.7 mg, 750 μmol) in abs. Dichlormethan (25 mL) gelöst. Nach Einleiten von molekularem Sauerstoff in die farblose Lösung bei einer Temperatur von -78°C für 30 min, wurde eine Blaufärbung der Lösung beobachtet. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf Raumtemp. erwärmt. Nach drei Wochen wurden türkise Kristalle erhalten, welche eine hohe Qualität aufwiesen und für eine Einkristallstrukturanalyse geeignet waren.

Elementaranalyse (C₂₆H₂₆N₆O₂):

	C %	H %	N %
berechnet	38.65	3.24	10.40
gefunden	39.02	3.57	10.29

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3400 (m, NH-Val.), 2918 (s, CH-Val.), 1617 (m, C=C-Val.), 1596, 1580, 1498 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1394 (m, NCO-Streckschwing. sym.) 1268, 1128, 1085 (w, CH-Deformationsschwing.), 825 (s, PF₆-Val.) 6715 (s, arom. Monosubstitution) cm⁻¹.

MS (ESI⁺, Aceton): m/z (%) = 517.249 [2 LoL1 + Cu]⁺

12.4.13 Synthese von *tert*-Butylimidsäureethylester-hydrochlorid (24)


Die Synthese erfolgte nach der Vorschrift von WURTHWEIN *et al.*^[186]. Trimethylacetonitril (**23**) (6.02 g, 8.00 mL, 72.4 mmol) wurde in abs. Ethanol (4.19 g, 5.30 mL, 90.9 mmol) gelöst und auf 0 °C gekühlt. In einem separaten Kolben wurde, durch Zugabe von konz. Schwefelsäure zu festem Natriumchlorid, HCl-Gas erzeugt. Das HCl-Gas wurde zur Trocknung zunächst durch konz. Schwefelsäure geleitet und anschließend in die Reaktionslösung. Das nicht reagierte HCl-Gas wurde nach Austritt aus dem Reaktionskolben zur Desaktivierung durch eine wässr. ges. NaOH-Lösung geleitet. Nach 3 h wurde die Lösung eingengt, der ausfallende Niederschlag abfiltriert und mit Diethylether (10 mL) gewaschen. Es wurde ein farbloser kristalliner Feststoff von **24** erhalten.

Ausbeute: 1.37 g (8.27 mmol, 11 %)

Lit.^[186]: 47 %

Empirisch wurde ermittelt, dass die Reaktion ausschließlich stattfand, wenn eine neue, zuvor ungeöffnete Flasche mit Schwefelsäure verwendet wurde, da hier der Wassergehalt am geringsten ist, was vermutlich eine Voraussetzung für die Reaktion darstellt.

Elementaranalyse (C₇H₁₆ClNO):

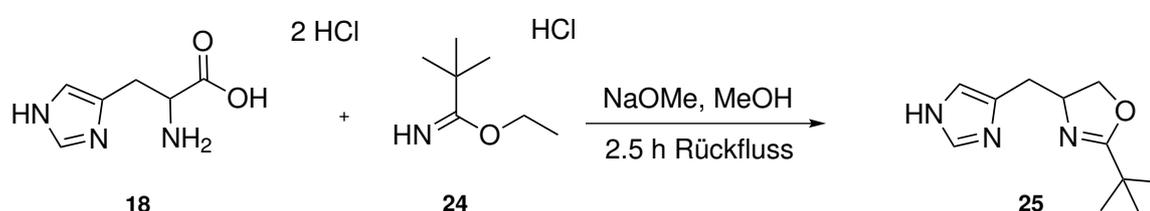
	C %	H %	N %
berechnet	50.75	9.73	8.46
gefunden	50.73	9.76	8.66

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 11.71 (d, 2H, NH₂), 4.67 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.36 (s, 9H, H₂N=C(C-CH₃)-O) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 184.6 (C, 1 C, H₂N=C(C-CH₃)-O), 71.2 (CH₂, 1C, O-CH₂-CH₃), 38.8 (C, 1C, H₂N=C(C-CH₃)-O), 27.5 (CH₃, 3C, H₂N=C(C-CH₃)-O), 13.6 (CH₃, 1 C, O-CH₂-CH₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2830 (bs, CH₃-sym. Streckschwing.), 1638 (s, C=N-Streckschwing.), 1074 (m, CH₃-Deformationsschw.), 897 (s, CO-Streckschwing.) cm⁻¹.

12.4.14 Synthese von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-(*tert*-butyl)-4,5-dihydrooxazol (L_{OL}2, **25**)



4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-(*tert*-butyl)-4,5-dihydrooxazol (**18**) wurde nach einer Synthesevariante von PFALTZ *et al.*^[185] hergestellt. Unter Schlenkbedingungen wurde Histidinol-dihydrochlorid (**18**) (1.50 g, 7.00 mmol) und *tert*-Butylimidsäureethylesterhydrochlorid (**24**) (1.01 g, 6.11 mmol, 1.3 Äq.) in Methanol (15 mL) gelöst. Im

Gegenstrom wurde Natriummethanolat (950 mg, 17.6 mmol, 2.5 Äq.) hinzugefügt und die Suspension für 2.5 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde filtriert und das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan (20 mL) und einer wässr. NaCO₃-Lösung (20 mL) versetzt. Die wässr. Phase wurde mit Dichlormethan (dreimal mit je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über NaSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, welches säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wurde (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Methanol 9:1, R_f-Wert: 0.13 - 0.29). Das Produkt **25** wurde als blassgelbes Öl erhalten, welches 7 d i. Vak. getrocknet wurde.

Ausbeute: 667 mg (3.22 mmol, 46 %)

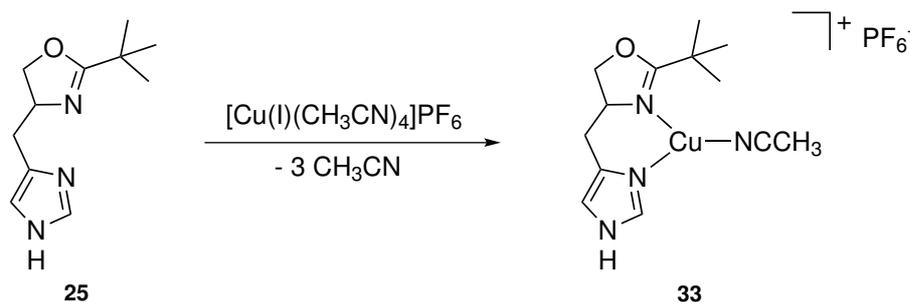
Elementaranalyse (C₁₁H₁₇N₃O):

	C %	H %	N %
berechnet	63.43	8.71	20.17
gefunden	63.15	8.84	20.41

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 7.59 (s, 1H, Imidazol H-2), 6.85 (s, 1H, Imidazol H-5), 4.40-4.31 (m, 1H, O-CH₂-CH-N), 4.25 (dd, *J* = 9.4, 8.5 Hz, 1H, O-CH₂-CH-N), 4.10 (dd, *J* = 8.5, 6.7 Hz, 1H, O-CH₂-CH-N), 2.94 (ddd, *J* = 14.6, 4.5, 0.8 Hz, 1H, Imidazol-CH₂-CH), 2.68 (dd, *J* = 14.7, 7.8 Hz, 1H, Imidazol-CH₂-CH), 1.17 (s, 9H, -C(CH₃)₃) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 177.2 (C, 1C, N=C-O), 136.1 (CH, 1C, Imidazol C-2), 134.4 (C, 1C, Imidazol C-4), 118.8 (CH, 1C, Imidazol C-5), 73.0 (CH₂, 1C, O-CH₂-CH-N), 66.2 (CH, 1C, O-CH₂-CH-N), 34.3 (CH₂, 1C, Imidazol-CH₂-CH-), 33.4 (C, 1C, C(CH₃)₃), 28.1 (CH₃, 1C, C(CH₃)₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3093 (m, arom. CH-Val.), 2970 (s, aliph. CH-Val.), 1648 (s, Imin-Val.), 1482 (m, CH-Deformationsschwing.), 1143 (s, CO-Val.) cm⁻¹.

12.4.15 Synthese von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{L}_{\text{OL}}2)(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ ($\text{CuL}_{\text{OL}}2$, **33**)

Unter inerten Bedingungen wurde 4-((1*H*-imidazol-4-yl)methyl)-2-(*tert*-butyl)-4,5-dihydrooxazol (**25**) (100 mg, 482 μmol) in abs. Acetonitril (8 mL) vorgelegt und Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat (180 mg, 482 μmol), gelöst in abs. Acetonitril (5 mL), unter Rühren tropfenweise zu der Lösung hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 30 min unter N_2 -Atmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. ergab **33** als farbloses, kristallines Pulver.

Ausbeute: 192 mg (420 μmol , 87 %).

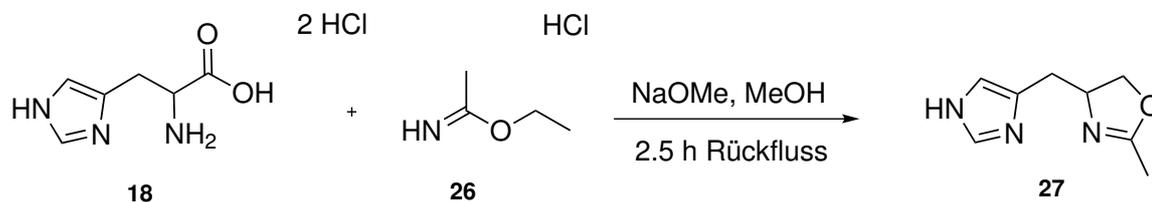
Elementaranalyse ($\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{CuF}_6\text{N}_5\text{P}$):

	C %	H %	N %
berechnet	34.18	4.41	12.26
gefunden	34.20	4.53	12.33

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3CN , 300 K): δ = 7.67 (s, 1H, Imidazol H-2), 6.94 (s, 1H, Imidazol H-5), 4.55 (t, J = 9.2 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 4.18-4.10 (m, 1H, O- CH_2 -CH-N), 3.89 (t, J = 9.1 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 2.86 (d, J = 15.3 Hz, 1H, Imidazol- CH_2 -CH), 2.55 (dd, J = 23.1, 8.2 Hz, 1H, Imidazol- CH_2 -CH), 1.96 (s, 3H, NCCH_3), 1.34 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CD_3CN , 300 K): δ = 177.6 (C, 1C, $\text{N}=\text{C}-\text{O}$ -), 138.3 (C, 1C, Imidazol C-4), 136.5 (CH, 1C, Imidazol C-2), 114.6 (CH, 1C, Imidazol C-5), 73.36 (CH_2 , 1C, O- CH_2 -CH-N), 67.1 (CH, 1C, O- CH_2 -CH-N), 34.6 (C, 1C, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 32.9 (CH_2 , 1C, O- CH_2 -CH-N), 28.3 (CH_3 , 1C, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

12.4.17 Synthese von 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-methyl-4,5-dihydrooxazol (**L_{OL}3**, **27**)



Unter N_2 -Atmosphäre wurden Histidinol-dihydrochlorid (**18**) (1.50 g, 7.00 mmol), Ethylacetimidat-hydrochlorid (**26**) (754 mg, 6.10 mmol, 1.3 Äq.) und Natriummethanolat (950 mg, 17.6 mmol, 2.5 Äq.) in abs. Methanol (15 mL) gelöst und 2.5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde die Suspension filtriert, das Reaktionsgemisch mit einer wässr. NaCO_3 -Lösung (20 mL) versetzt und mit Dichlormethan (dreimal mit je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über NaSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, welches säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wurde (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Methanol 9:1, R_F -Wert: 0.31. Das Produkt **27** wurde als farbloses Öl erhalten, welches 7 d i. Vak. getrocknet wurde.

Ausbeute: 393 mg (2.38 mmol, 34 %)

Elementaranalyse ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}$):

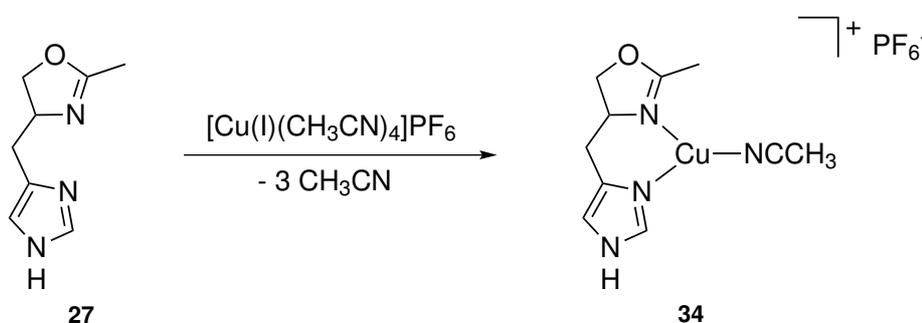
	C %	H %	N %
berechnet	58.17	6.71	25.44
gefunden	57.85	6.92	25.65

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , 300 K): δ = 7.58 (s, 1H, Imidazol H-2), 6.86 (s, 1H, Imidazol H-5), 4.40-4.34 (m, 1H, O- CH_2 -CH-N), 4.30 (dd, J = 9.4, 8.5 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 4.05 (dd, J = 8.3, 7.0 Hz, 1H, O- CH_2 -CH-N), 2.94 (ddd, J = 14.7, 5.4, 0.7 Hz, 1H, Imidazol- CH_2 -CH-), 2.69 (dd, J = 14.7, 7.7 Hz, 1H, Imidazol- CH_2 -CH), 2.69 (s, 3H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CD_3OD , 300 K): $\delta = 168.4$ (C, 1C, N=C-O), 136.1 (CH, 1C, Imidazol C-2), 135.9 (C, 1C, Imidazol C-4), 118.3 (CH, 1C, Imidazol C-5), 73.4 (CH_2 , 1C, O- CH_2 -CH-N), 66.5 (CH, 1C, O- CH_2 -CH-N), 33.8 (CH_2 , 1C, Imidazol- CH_2 -CH), 13.6 (CH_3 , 1C, CH_3) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3081$ (m, arom. CH-Val.), 2972, 2897, 2842 (m, aliph. CH-Val.), 1666 (s, Imin-Val.), 1432 (m, CH-Deformationsschwing.), 981 (s, CO-Val.) cm^{-1} .

12.4.18 Synthese von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{L}_{\text{OL}}\mathbf{3})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$ ($\text{CuL}_{\text{OL}}\mathbf{2}$, **34**)



Unter inerten Bedingungen wurde 4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-2-methyl-4,5-dihydrooxazol (**27**) (100 mg, 605 μmol) in abs. Acetonitril (8 mL) vorgelegt und Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat (180 mg, 605 μmol), gelöst in abs. Acetonitril (5 mL), unter Rühren tropfenweise zu der Lösung hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde 30 min unter N_2 -Atmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. ergab **34** als farbloses, kristallines Pulver.

Ausbeute: 216 mg (521 μmol , 86 %).

Elementaranalyse ($\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{CuF}_6\text{N}_5\text{P}$):

	C %	H %	N %
berechnet	28.96	3.40	13.51
gefunden	28.81	3.43	13.43

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN, 300 K): δ = 7.67 (s, 1H, Imidazol H-2), 6.95 (s, 1H, Imidazol H-5), 4.59 (t, J = 8.9 Hz, 1H, O-CH₂-CH-N), 4.11-4.04 (m, 1H, O-CH₂-CH-N), 3.97 (t, J = 8.8 Hz, 1H, O-CH₂-CH-N), 2.88 (d, J = 14.9 Hz, 1H, Imidazol-CH₂-CH), 2.52 (dd, J = 14.0, 12.1 Hz, 1H, Imidazol-CH₂-CH), 2.09 (s, 3H, CH₃), 1.96 (s, 3H, NCCH₃) ppm.

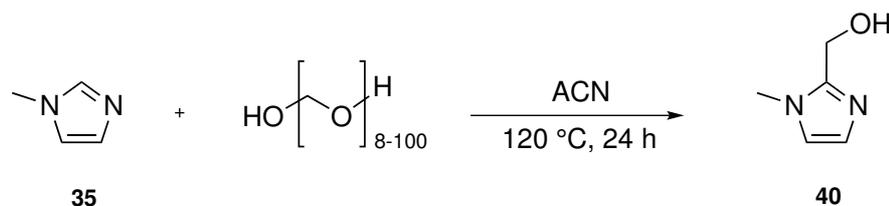
¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃CN, 300 K): δ = 169.2 (C, 1C, N=C-O), 138.5 (C, 1C, Imidazol C-4), 136.9 (CH, 1C, Imidazol C-2), 114.6 (CH, 1C, Imidazol C-5), 72.2 (CH₂, 1C, O-CH₂-CH-N), 66.1 (CH, 1C, O-CH₂-CH-N), 33.1 (CH₂, 1C, Imidazol-CH₂-CH), 14.5 (C, 1C, CH₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3427 (m, NH-Val.), 3139, 2969, (s, CH-Val.), 1653 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1406 (s, Imin-Val.), 1399 (m, NCO-Streckschwing. sym.) 1252, 1082 (w, CH-Deformationsschwing.), 995 (s, arom. C=C-Val.), 825 (s, PF₆-Val.) cm⁻¹.

Raman: $\tilde{\nu}$ = 2941 (s, arom. C-H-Val.), 2275 (s, C \equiv N-Val.) 1660, 1575 (w, C=C, C=N-Val.), 1441 (w, C-H-Deformationsschwing. (-CH₂, -CH₃)), 1376, 1273, 746 (w, CH-Deformationsschwing.) cm⁻¹.

12.5 Synthese und Syntheseversuche Imidazol-basierter Modellsysteme

12.5.1 Synthese von 1-Methyl-2-hydroxymethylimidazol (**40**)



In einem 32 mL Teflongefäß wurden 1-Methylimidazol (**35**) (7.50 g, 7.28 mL, 91.3 mmol) und Paraformaldehyd (7.50 g, 91.3 mmol) in Acetonitril (7.00 mL) suspendiert und 24 h bei 120 °C im Ofen erhitzt. Es wurde eine braune Lösung erhalten, zu der wenig Aceton hinzugefügt wurde, damit das Produkt auskristallisierte. Der Feststoff wurde filtriert, gründlich mit Aceton (15 mL) gewaschen und i. Vak. getrocknet. Das Produkt **40** wurde als farblose Kristalle erhalten.

Ausbeute: 3.71 g (33.1 mmol, 36 %)

Lit.^[190]: 80 %

Elementaranalyse (C₁₅H₈N₂O):

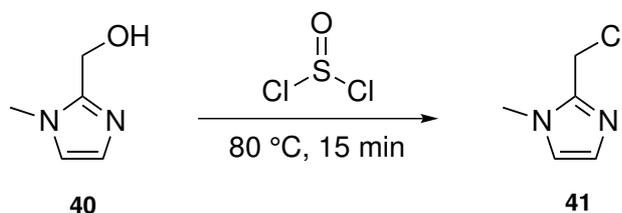
	C %	H %	N %
berechnet	53.56	7.19	24.98
gefunden	53.50	7.38	24.78

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 6.76 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, Imidazol H-4), 6.72 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, Imidazol H-5), 4.54 (s, 2H, CH₂-OH), 3.65 (s, 3H, N-CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 147.1 (C, 1C, Imidazol C-2), 125.4 (CH, 1C, Imidazol C-4), 120.4 (CH, 1C, Imidazol C-5), 54.4 (CH₂, 1C, CH₂-OH), 31.8 (CH₃, 1C, N-CH₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3122, 2937, 2816$ (v, OH und CH-Val.), 1599, 1497 (s, CONR₂-Val.), 1438 (m, aliph. CH₂-Val.), 1351, 1293 (s, OH-Val.) 1138, 1022 (s, CO-Streckschwing.), 933 (s, arom. C=C-Val.) cm⁻¹.

12.5.2 Synthese von 2-Chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazolhydrochlorid (41)



Um die Alkohol-Funktion von 1-Methyl-2-hydroxymethylimidazol (**40**) zu chlorieren, wurde Thionylchlorid (15.5 mL, 25.4 g, 214 mmol) auf 0 °C gekühlt und unter N₂-Atmosphäre über einen Zeitraum von 15 min langsam 1-Methyl-2-hydroxymethylimidazol (**40**) (9.44 g, 84.3 mmol) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemp. erwärmt und daraufhin 15 min unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und in Ethanol (20 mL) umkristallisiert. Das Produkt **41** wurde als farblose Kristalle erhalten.

Ausbeute: 5.48 g (42.1 mmol, 50 %)

Lit.^[190]: 88 %

Elementaranalyse (C₅H₇ClN₂):

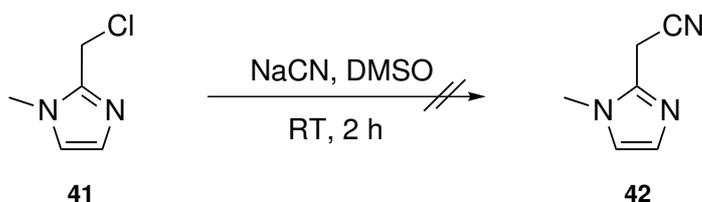
	C %	H %	N %	Cl %
berechnet	35.95	4.83	16.77	42.45
gefunden	36.19	4.41	16.61	39.90

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K): $\delta = 7.04$ (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, Imidazol H-4), 6.85 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, Imidazol H-5), 4.63 (s, 2H, CH₂-Cl), 3.74 (s, 3H, N-CH₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CD_3OD , 300 K): $\delta = 148.4$ (C, 1C, Imidazol C-2), 127.0 (CH, 1C, Imidazol C-4), 123.4 (CH, 1C, Imidazol C-5), 56.7 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 33.2 (CH_3 , 1C, N- CH_3) ppm.

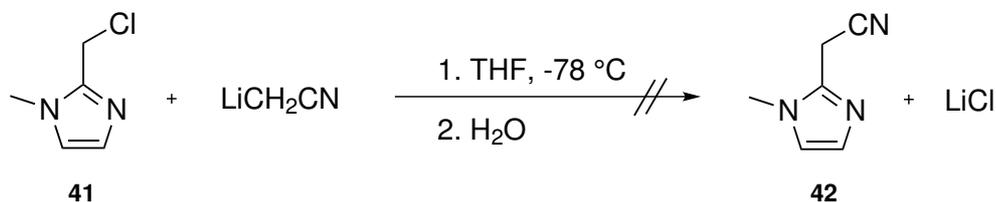
MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3112$, 3001 (m, arom. CH-Val.), 2961 (m, aliph. CH-Val.), 1803, 1293, 1220 (s, C-Cl-Val.), 1594, 1522 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1395 (m, CH-Deformationsschwing.), 923 (s, arom. C=C-Val.) cm^{-1} .

12.5.3 Syntheseversuch von 2-(1-Methyl-1*H*-imidazol-2-yl)-acetonitril (**42**)



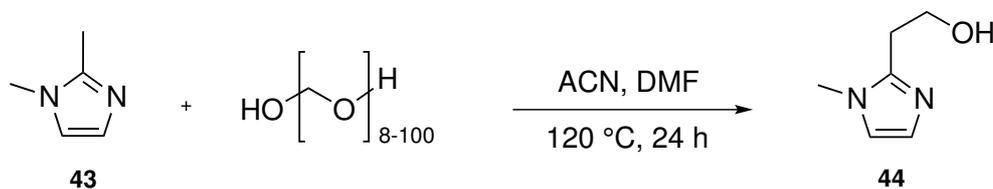
Für die Umsetzung zum Nitrilderivat **42** wurde nach einer Vorschrift von DAI *et al.*^[190] verfahren. 2-Chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazol-hydrochlorid (**41**) (3.50 g, 58.3 mmol) wurde in Dimethylsulfoxid (50 mL) gelöst und die Lösung auf 40 °C erwärmt. Anschließend wurde eine Lösung, bestehend aus Natriumcyanid (14.6 g 298 mmol) in Dimethylsulfoxid (150 mL), hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei Raumtemp. gerührt, wobei sich die Lösung orange färbte. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und langsam eine ges. NaHCO_3 -Lösung (100 mL) hinzugegeben (Achtung: HCN-Gas entweicht!). Das Gemisch wurde mit Chloroform (sechsmal mit je 40 mL) extrahiert und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Es wurde ein rotes Öl erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **42** nicht erhalten wurde.

12.5.4 Syntheseversuch von 2-(1-Methyl-1*H*-imidazol-2-yl)-acetonitril (**42**)

Bei diesem alternativen Syntheseweg von BRIDGER *et al.*^[192] wurde zunächst Cyanomethylithium erzeugt, indem Acetonitril (5.24 g, 6.70 mL, 128 mmol, 1.1 Äq.) und eine 2.5 M *n*-BuLi-Lösung (7.40 g, 46,2 mL, 115 mmol) bei -78 °C unter N₂-Atmosphäre 45 min gerührt wurde. Zu der erhaltenen Suspension wurde langsam eine Lösung, bestehend aus 2-Chloromethyl-1-methyl-1*H*-imidazol (1.96 g, 15.0 mmol, 0.13 Äq.) in abs. THF, hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde bei -78 °C 2 h gerührt und anschließend über einen Zeitraum von ca. 30 min auf Raumtemp. erwärmt. Die Reaktionslösung wurde durch Zugabe von dest. Wasser (25 mL) gequenchet. Die wässr. Phase wurde mit Dichlormethan (dreimal mit je 15 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **42** nicht erhalten wurde.

12.5.5 Synthese von 1-Methyl-2-(hydroxyethyl)imidazol (**44**)

Nach einer Variante von LEE *et al.*^[193] sollte 1-Methyl-2-(hydroxyethyl)-imidazol (**44**) synthetisiert werden. Hierfür wurden Paraformaldehyd (2.00 g 66.6 mmol) und 1,2-Dimethylimidazol (**43**) (6.41 g, 66.6 mmol) in einem Gemisch aus Acetonitril und Dimethylformamid (8 mL, 1:1) suspendiert und in einem 32 mL Teflongefäß 24 h bei 130 °C im Ofen erhitzt. Anschließend wurde ein Gemisch aus Aceton und *n*-Hexan (1:1) hinzugefügt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, das Filtrat i. Vak. eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Methanol 8:1, R_F-Wert: 0.40). Es wurde eine gelbe Lösung erhalten, aus der farblose Nadeln auskristallisierten. Diese wurden abfiltriert und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 4.71 g (37.3 mmol, 56 %)

Lit.^[193]: 65 %

Elementaranalyse (C₆H₁₀N₂O):

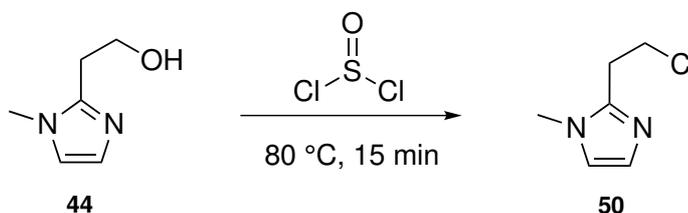
	C %	H %	N %
berechnet	57.12	7.99	22.21
gefunden	54.94	8.70	23.37

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 6.87 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, Imidazol H-4), 6.77 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, Imidazol H-5), 3.98 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂-CH₂-OH), 3.55 (s, 3H, N-CH₃), 2.81 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂-CH₂-OH) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 146.9 (C, 1C, Imidazol C-2), 126.8 (CH, 1C, Imidazol C-4), 120.5 (CH, 1C, Imidazol C-5), 59.9 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-OH), 32.6 (CH₃, 1C, N-CH₃), 29.0 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-OH) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3103 (m, OH-Val.), 2951, 2855 (m, aliph. CH-Val.), 1625 (s, C=N-Streckschwing. Imidazol), 1525 (s, C=C-Streckschwing.), 1497, 1458, 1410 1361, 1288, 1176, 1133 (m, CH-Deformationsschwing.), 942 (s, arom. C=C-Val.) cm^{-1} .

12.5.6 Synthese von 2-Chloroethyl-1-methyl-1*H*-imidazolhydrochlorid (**50**)



Um die Alkoholfunktion von 1-Methyl-2-hydroxyethylimidazol (**44**) zu chlorieren, wurde Thionylchlorid (2.50 mL, 4.09 g, 34.4 mmol, 3 Äq.) auf 0 °C gekühlt und unter N₂-Atmosphäre über einen Zeitraum von 15 min langsam portionsweise 1-Methyl-2-hydroxyethylimidazol (**44**) (1.50 g, 11.9 mmol) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemp. erwärmt und daraufhin 15 min unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und in Ethanol (5 mL) umkristallisiert. Das Produkt **50** wurde als blassgelbe Kristalle erhalten.

Ausbeute: 1.10 g (7.62 mmol, 64 %)

Elementaranalyse (C₆H₁₀N₂O):

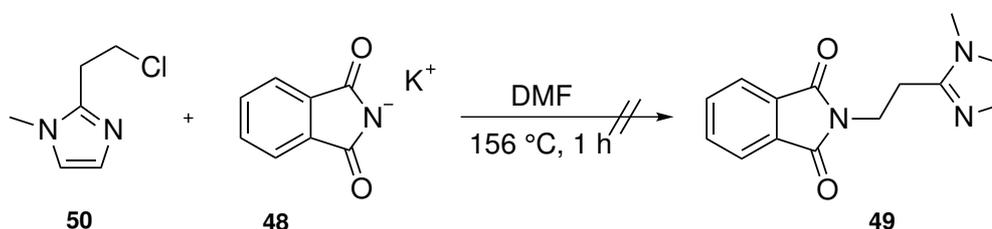
	C %	H %	N %	Cl %
berechnet	39.80	5.57	15.47	39.16
gefunden	39.37	5.63	14.63	38.05

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 7.55 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Imidazol H-4), 7.52 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Imidazol H-5), 4.00 (dd, J = 6.6, 6.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂-Cl), 3.91 (s, 3H, CH₃), 3.55 (t, J = 6.3 Hz, 2H, CH₂-CH₂-Cl) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CD_3OD , 300 K): $\delta = 145.8$ (C, 1C, Imidazol C-2), 125.0 (CH, 1C, Imidazol C-4), 119.7 (CH, 1C, Imidazol C-5), 41.4 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl}$), 35.2 (CH_3 , 1C, CH_3), 28.8 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl}$) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3150, 3070$ (m, CH-Val.), 2697 (sb, $\text{NH}^+=\text{C-Val.}$), 1602, 1528 (s, C=C, C=N-Val.), 935, 861 (m, CH-Deformationsschwing.), 764, 660 (s, C-Cl-Val.) cm^{-1} .

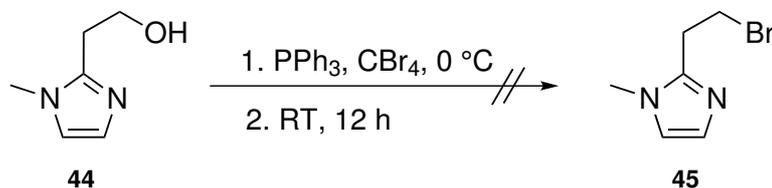
12.5.7 Syntheseversuch von 2-(2-(1-Methyl-1H-imidazol-2-yl)ethyl)-isoindolin-1,3-dion (49)



Nach einer Vorschrift von GOLDBERG *et al.*^[198] wurden 2-Chloroethyl-1-methyl-1H-imidazol (**50**) (1.00 g, 6.94 mmol) und Kaliumphthalimid (**48**) (1.28 g, 6.94 mmol, 1 Äq.) in DMF (7 mL) suspendiert und 1 h unter Rückfluss (156 °C) erhitzt. Die Lösung färbte sich gelb. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eiswasser (5 mL) gegeben und mit Chloroform (viermal mit je 15 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden nacheinander mit einer wässr. KOH-Lösung (einmal mit je 15 mL), mit dest. Wasser (15 mL) und zuletzt mit 2 M HCl (15 mL) gewaschen. Die org. Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und anschließend i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **49** nicht erhalten wurde.

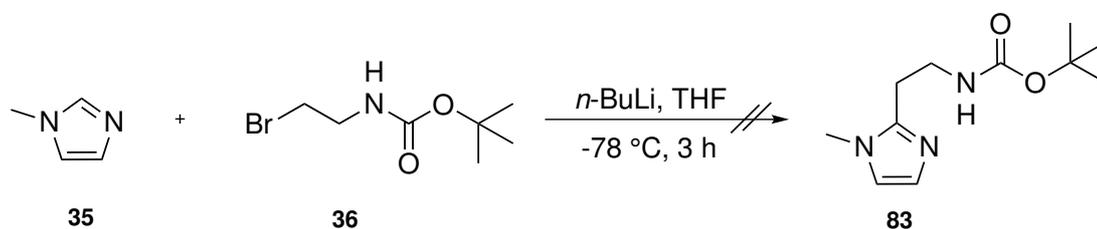
12.5.8 Syntheseversuch von 2-(2-Bromoethyl)-1-methyl-1H-imidazol (45)



Nach einer Vorschrift von ROMERO *et al.*^[196] wurde unter inerten Bedingungen bei 0 °C 2-Chloroethyl-1-methyl-1H-imidazol (**44**) (2.00 g, 15.9 mmol) in abs. THF (30 mL) gelöst und portionsweise Triphenylphosphin (6.63 g, 23.8 mmol, 1.5 Äq.) und Tetrabrommethan (7.89 g, 23.8 mmol, 1.5 Äq.) hinzugefügt. Der Reaktionsansatz wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Es fiel ein farbloser Feststoff aus. Zu der Suspension wurde Diethylether (40 mL) hinzugefügt, der Feststoff abfiltriert und das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Korngröße 0.040 - 0.063 mm, Dichlormethan / Methanol 9:1, R_f-Wert: 0.34).

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **45** nicht erhalten wurde.

12.5.9 Syntheseversuch von *tert*-Butyl(2-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)ethyl)carbammat (83)

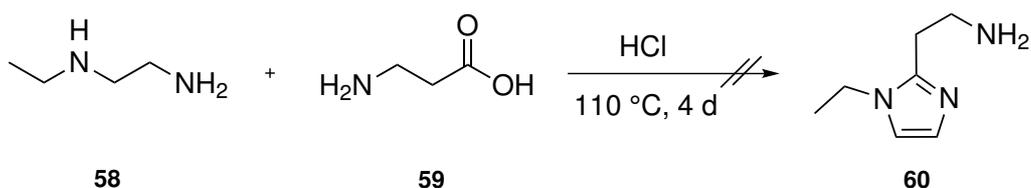


Die Synthese des Liganden *tert*-Butyl(2-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)ethyl)carbammat (**83**) erfolgte nach einer Methode von TANAKA *et al.*^[189]. Unter inerten Bedingungen wurde 1-Methylimidazol (**35**) (429 mg, 4.46 mmol) in abs. THF (20 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Langsam wurde eine 2.5 M *n*-BuLi-Lösung (343 mg, 1.78 mL, 5.35 mmol,

1.2 Äq.) hinzugefügt und 1 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Zugabe des Boc-geschützten 2-Bromethylamins (**36**) (1.00 g, 4.50 mmol), gelöst in abs. THF (7 mL), wurde das Reaktionsgemisch weitere 3 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Zugabe von dest. Wasser (10 mL) wurde die org. Phase abgetrennt und die wässr. Phase mit Chloroform (dreimal mit je 15 mL) gewaschen. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein farbloses Öl erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **83** nicht erhalten wurde.

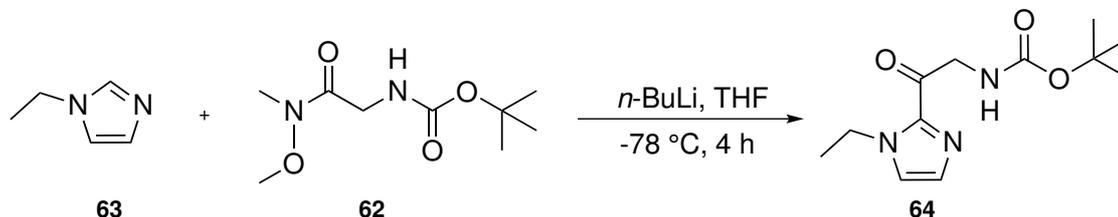
12.5.10 Syntheseversuch von 2-(1-Ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-ethylamin (**60**)



Für die Darstellung von 2-(1-Ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethylamin (**60**) wurde nach einer variierten Syntheseroute von LAURENTI *et al.*^[155] verfahren. *N*-Ethylethylenediamin (**58**) (1.00 g, 1.19 mL 11.3 mmol) und β -Alanin (**59**) (1.51 g, 17.0 mmol, 1.5 Äq.) wurden in 6 M Salzsäure (15 mL) gelöst und 4 d unter Rückfluss erhitzt. Nach Erkalten der Reaktionslösung auf Raumtemp. wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **60** nicht erhalten wurde.

12.5.11 Synthese von *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (**64**)



Nach einer Synthesevariante von HANAZAWA *et al.*^[189] wurde unter Schlenkbedingungen 1-Ethylimidazol (**63**) (6.39 g, 66.4 mmol) in abs. Tetrahydrofuran (50 mL) gelöst. Die Lösung wurde auf -78 °C gekühlt und tropfenweise mit einer 2.5 M *n*-BuLi-Lösung in *n*-Hexan (20.5 g, 30.0 mL, 320 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung färbte sich dunkelgelb und wurde 1 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde langsam *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-glycin-*N'*-methoxy-*N'*-methylamid (**62**) (4.05 g, 18.6 mmol) hinzugegeben und für weitere 4 h bei -78 °C gerührt. Die gelbe Lösung wurde mit einer wässr. NaHCO₃-Lösung (10 mL) versetzt. Das überschüssige NaHCO₃ wurde abfiltriert und zu dem Reaktionsgemisch wurde Ethylacetat (40 mL) hinzugefügt. Die Phasen wurden getrennt und die wässr. Phase mit einem Gemisch aus Ethylacetat und Tetrahydrofuran (zweimal mit je 50 mL; 1:1) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, welches anschließend in einem *n*-Hexan / Ethylacetat-Gemisch (2:1) aufgenommen wurde. Die erhaltenen farblosen Kristalle wurden abfiltriert, mit *n*-Hexan / Ethylacetat-Gemisch (5 mL, 2:1) gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 2.98 g (11.8 mmol, 63 %)

Elementaranalyse (C₁₂H₁₉N₃O₃):

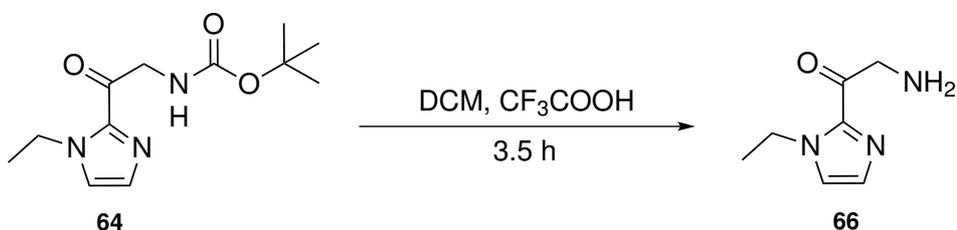
	C %	H %	N %
berechnet	56.90	7.56	16.59
gefunden	56.54	8.29	16.17

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 7.15$ (d, $J = 0.6$ Hz, 1H, Imidazol H-5), 7.11 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H, Imidazol H-4), 4.70 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H, $\text{C(=O)-CH}_2\text{-NH-C(=O)-O}$), 4.42 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, Imidazol- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.45 (s, 9H, $\text{NH-C(=O)-O-C(CH}_3)_3$), 1.40 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, Imidazol- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 187.2$ (C, 1C, Imidazol- $\text{C(=O)-CH}_2\text{-NH}$), 156.0 ($\text{C(=O)-CH}_2\text{-NH-C(=O)-O}$), 140.7 (C, 1C, Imidazol C-2), 130.0 (CH, 1C, Imidazol C-4), 125.5 (CH, 1C, Imidazol C-5), 79.7 (C, 1C, $\text{NH-C(=O)-O-C(CH}_3)_3$), 48.3 (CH_2 , 1C, Imidazol- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 43.7 (CH_2 , 1C, $\text{C(=O)-CH}_2\text{-NH-C(=O)-O}$), 28.5 (CH_3 , 3C, $\text{NH-C(=O)-O-C(CH}_3)_3$), 16.5 (CH_3 , 1C, Imidazol- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu} = 3358$, 3125 (s, NH-Streckschw.), 2991, 2936 (m, aliph. CH-Val.), 1707 (s, C=O -Streckschw.), 1671 (s, C=C -Streckschw.), 1524 (s, NH-Deformations- und CN-Streckschw.), 1156 (s, C-O-C-sym. Streckschw.) cm^{-1} .

12.5.12 Synthese von 2-Amino-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**66**)



Variante 1:

tert-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbamate (**64**) (400 mg, 1.58 mmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und konz. HCl (15 mL, 2:1) gelöst und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte ein Gemisch aus dem eingesetzten Edukt und dem entschützten Produkt **66**.

Variante 2:

tert-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (**64**) (400 mg, 1.58 mmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol und konz. HCl (15 mL, 2:1) gelöst und 2 d bei 70 °C erhitzt und anschließend 3 d bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte ein Gemisch aus dem eingesetzten Edukt und dem entschützten Produkt **66**.

Variante 3:

tert-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (**64**) (400 mg, 1.58 mmol) wurde in einem Gemisch aus Dichlormethan und Trifluoressigsäure (8 mL, 2:1) gelöst und 2.5 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung färbte sich sofort gelb. Das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Produkt **66** wurde als gelbes Öl erhalten.

Elementaranalyse (C₇H₁₁N₃O):

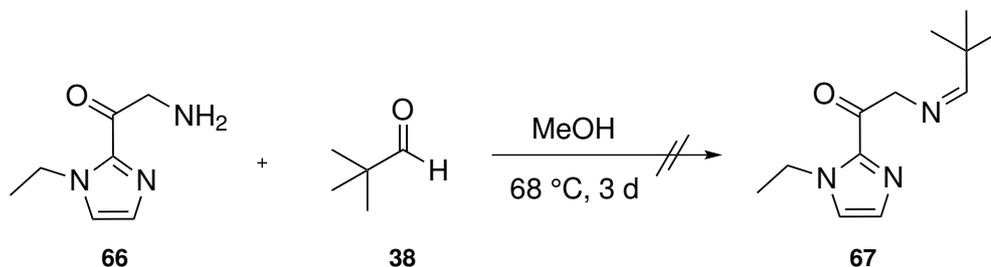
	C %	H %	N %
berechnet	54.89	7.27	27.43
gefunden	41.17	4.55	29.63

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 7.56 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, Imidazol H-5), 7.23 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, Imidazol H-4), 4.60-4.43 (m, 4H, N-CH₂-CH₃ und C(=O)-CH₂-NH₂), 1.43 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, N-CH₂-CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃OD, 300 K): δ = 183.6 (C, 1C, C(=O)-CH₂-NH₂), 140.9 (C, 1C, Imidazol C-2), 131.3 (CH, 1C, Imidazol C-4), 128.6 (CH, 1C, Imidazol C-5), 46.1 (CH₂, 1C, C(=O)-CH₂-NH₂), 44.8 (CH₂, 1C, N-CH₂-CH₃), 16.6 (CH₃, 1C N-CH₂-CH₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3344 (s, NH-Streckschw.), 1681 (s, C=O-Streckschw.), 1428 (m, CH-asym. Deformationsschw.), 1125 (s, CN-Streckschwing.) cm⁻¹.

12.5.13 Syntheseversuch von 2-((2,2-Dimethylpropyliden)amino)-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**67**)



Variante: 1

Die Iminkondensation zu dem Produkt 2-((2,2-Dimethylpropyliden)amino)-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**67**) wurde unter N₂-Atmosphäre durchgeführt. Hierzu wurden 2-Amino-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**66**) (242 mg, 1.58 mmol), Trimethylacetaldehyd (**38**) (240 μmol , 2.21 mmol, 1.4 Äq.) und eine Spatelspitze *p*-Toluolsulfonsäure in abs. Toluol (35 mL) suspendiert. Da sich das Amin nicht löste, wurde zusätzlich abs. Methanol (20 mL) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 d bei 100 °C erhitzt. Anschließend wurde die Lösung i. Vak. eingeeengt, wobei sich ein braunes Öl am Boden abschied. Die überstehende gelbe Lösung wurde abdekantiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das braune Öl wurde ebenfalls i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Beide Fraktionen wurden NMR-spektroskopisch untersucht.

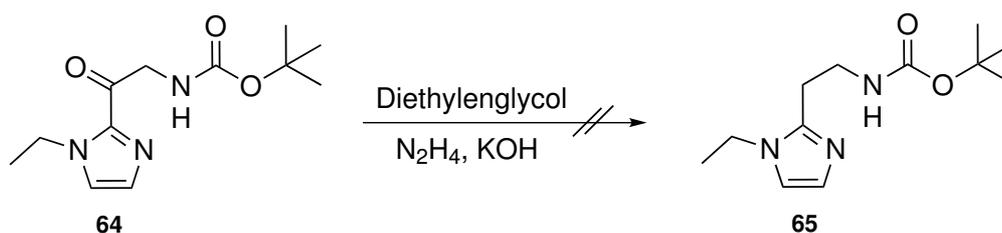
Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **67** nicht erhalten wurde.

Variante: 2

Aufgrund der geringen Konzentration der Reaktionslösung und der schlechten Löslichkeit in Toluol wurde eine weitere Syntheseariate versucht. Hierfür wurde 2-Amino-1-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)ethanon (**66**) (25 mg, 1.63 mmol) in abs. Methanol (10 mL) gelöst, Trimethylacetaldehyd (**38**) (210 mg, 270 μL , 2.45 mmol, 1.5 Äq.) hinzugefügt und unter N₂-Atmosphäre 3 d unter Rückfluss erhitzt. Nach 2 d wurde erneut Trimethylacetaldehyd (**38**) (77.8 mg, 100 μL , 907 μmol) hinzugefügt. Es fand ein Farbumschlag der Lösung von orange nach rot statt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Es wurde ein klares Öl erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **67** nicht erhalten wurde.

12.5.14 Syntheseversuch von *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-ethyl)carbammat (**65**)



Variante 1:

Nach einer variierten Vorschrift von MINCHIN *et al.*^[202] wurde KOH (200 mg, 3.59 mmol, 2 Äq.) in Diethylenglycol (8 mL) gelöst und *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (**64**) (452 mg, 1.80 mmol) hinzugefügt. Nach 5 min färbte sich das Reaktionsgemisch blassviolett. Anschließend wurde Hydrazin-monohydrat (206 mg, 4.12 mmol, 200 μL , 2.3 Äq.) hinzugegeben und für 4 h bei 160 °C gerührt. Innerhalb der ersten Stunde fand ein Farbumschlag nach braun statt. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und dest. Wasser (10 mL) hinzugefügt, mit Dichlormethan (sechsmal mit je 10 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein dunkelbraunes Öl erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **65** nicht erhalten wurde.

Variante 2:

Ein weiterer Syntheseversuch fand nach einer Vorschrift von BRINKER *et al.*^[258] statt. Hierzu wurden *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (**64**) (500 mg, 1.97 mmol) und fein gemörsertes NaOH (312 mg, 7.88 mmol, 4 Äq.) in Diethylenglycol (20 mL) gelöst. Für die Verbesserung der Löslichkeit von NaOH wurde wenig dest. Wasser (1 mL) hinzugefügt. Die Suspension wurde anschließend mit Hydrazin-

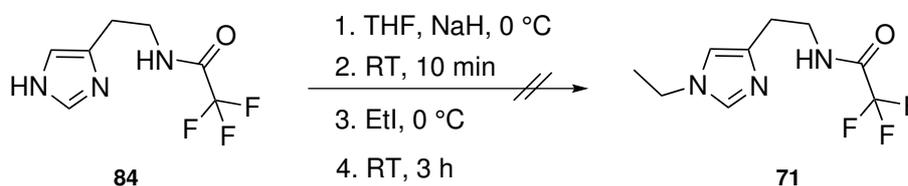
monohydrat versetzt. Der Ansatz wurde 4 h bei 110 °C gerührt und anschließend über Nacht bei 210 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde zu der braunen Lösung dest. Wasser (10 mL) hinzugegeben und mit Toluol (dreimal mit je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein dunkelbraunes Öl erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **65** nicht erhalten wurde.

Variante 3:

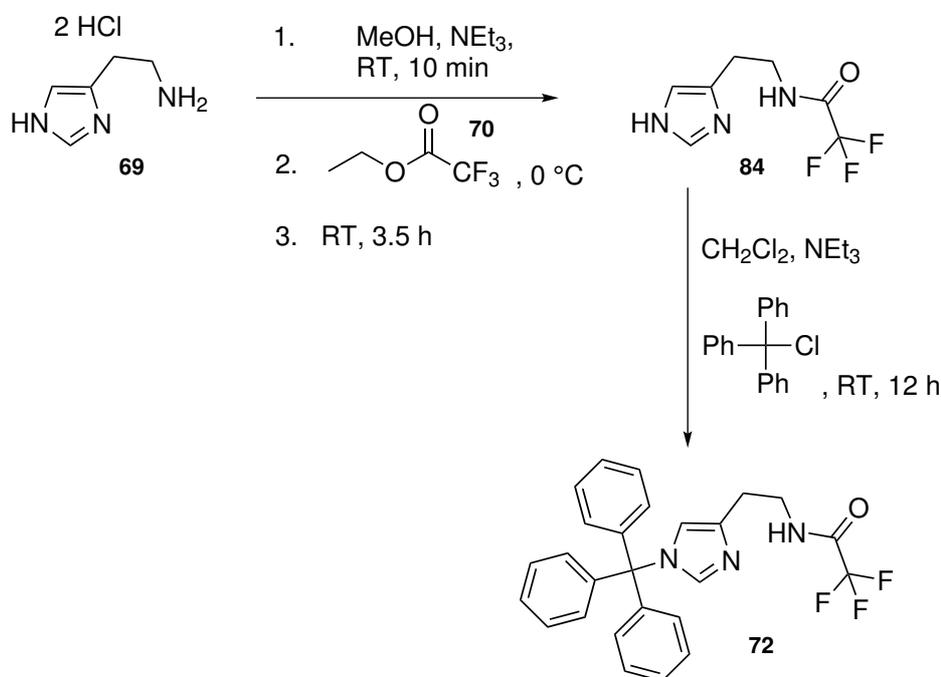
Bei dieser Synthesevariante wurde *tert*-Butyl(2-(1-ethyl-1*H*-imidazol-2-yl)-2-oxoethyl)carbammat (**64**) (500 mg, 1.97 mmol) in einem Gemisch aus Dichlormethan und Trifluoressigsäure (8.00 mL, 2:1) gelöst und 2.5 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, das entschützte Produkt in abs. THF (20 mL) gelöst und eine Lösung, bestehend aus THF (20 mL) und LiAlH₄ (599 mg, 15.8 mmol, 8 Äq.), vorsichtig hinzugefügt (Achtung: sehr starke Schaumbildung!). Die Reaktionslösung wurde 20 h unter N₂-Atmosphäre unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde vorsichtig mit dest. Wasser (15 mL) gequench und die ausfallenden Hydroxide abfiltriert. Das Filtrat wurde i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in THF aufgenommen. Der gelbe Feststoff wurde abfiltriert und i. Vak. getrocknet.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **65** nicht erhalten wurde.

12.5.15 Syntheseversuch von *N*-(2-(1-Ethyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)-2,2,2-trifluoroacetimidat (**71**)

Die Synthese von *N*-(2-(1-Ethyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)-2,2,2-trifluoroacetimidat (**71**) sollte nach einer Synthesevorschrift von T. Wendler^[204] erfolgen. *N*-(2-(1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)-2,2,2-trifluoroacetimidat (**84**) (1.13 g, 5.45 mmol) wurde in abs. THF (50 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Zu dem Reaktionsgemisch wurde portionsweise 60 %-iges NaH (218 mg, 5.45 mmol) hinzugefügt. Die Lösung wurde auf Raumtemp. erwärmt und 10 min gerührt. Anschließend wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Iodethan (850 mg, 440 μ mol, 5.45 mmol) hinzugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemp. erwärmt und 3 h gerührt. Hierbei färbte sich die Lösung blassgelb. Anschließend wurde dest. Wasser (15 mL) hinzugefügt und mit Dichlormethan (dreimal mit je 50 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten.

Die NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass das gewünschte Produkt **71** nicht erhalten wurde.

12.5.16 Synthese von 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**)

Die Synthese von 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**) basierte auf dem US-Patent von GARIBAY *et al.*^[205]. Zunächst wurde Histamin-dihydrochlorid (**69**) (4.00 g, 21.7 mmol) in Methanol (80 mL) gelöst und mit (6.68 g, 9.20 mL, 66 mmol, 3 Äq.) Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min bei Raumtemp. gerührt und anschließend Ethyltrifluoroacetat (**70**) (5.24 g, 4.39 mL, 36.9 mmol, 1.7 Äq.), gelöst in Methanol (10 mL), über einen Zeitraum von 15 min langsam bei 0 °C hinzuge tropft. Die Lösung wurde 3.5 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan (80 mL) aufgenommen und mit Triethylamin (4.53 g, 6.20 mL, 44.8 mmol) versetzt. Zu dem Reaktionsgemisch wurde portionsweise Triphenylmethylchlorid (6.66 g, 23.9 mmol) hinzugegeben und die Suspension über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Danach wurden Chloroform (80 mL) und dest. Wasser (120 mL) hinzugefügt. Die Phasen wurden getrennt und die wässr. Phase mit Chloroform (dreimal mit je 50 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in *n*-Hexan (200 mL) aufgenommen. Es wurde so lange gerührt, bis ein farbloser Feststoff ausfiel.

Dieser wurde abfiltriert und i. Vak. getrocknet. 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 4.715 g (10.49 mmol, 48 %)

Lit.^[205]: 91 %

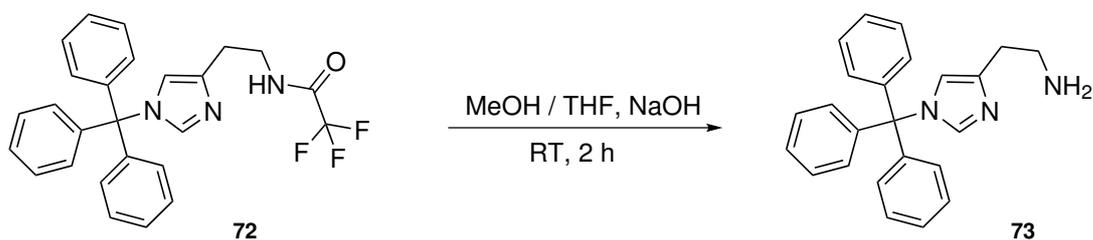
Elementaranalyse (C₂₆H₂₂F₃N₃O):

	C %	H %	N %
berechnet	69.48	4.93	9.35
gefunden	69.13	5.42	9.65

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 8.42 (bs, 1H, NH), 7.39 (s, 1H, Imidazol H-2), 7.37-7.08 (m, 15H, Phenyl H-2, H-3, H-4, H-5, H-6), 6.62 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.63 (dd, *J* = 11.7, 5.7 Hz, 2H, CH₂-CH₂-NH-C(=O)), 2.81-2.68 (m, 2H, CH₂-CH₂-NH-C(=O)) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 157.2 (C, 1C, NH-C(=O)-CF₃), 142.4 (C, 3C, Phenyl C-1), 138.9 (CH, 1C, Imidazol C-2), 138.6 (C, 1C, Imidazol C-4), 129.8 (CH, 6C, Phenyl C-3, C-5), 128.3 (CH, 6C, Phenyl C-2, C-6), 128.2 (CH, 3C, Phenyl C-4), 118.8 (CH, 1C, Imidazol C-5), 120.5, 117.6, 114.8, 111.9 (C, 1C, CF₃), 75.5 (C, 1C, C-(Phenyl)₃), 39.8 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-NH-C(=O)), 26.4 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-NH-C(=O)) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3289, 3221 (w, NH-Val.), 3057 (w, CH-Val. arom.), 2907 (w, CH-Val. aliph.), 1717, 1569 (s, w, CO-NH-Val., N-monosubstituiertes Amid), 1491 (m, C=N-Val., konj. cycl. Syst.), 1194 (s, CF-Val.), 753, 701 (s, CH-Deformationsschwing., monosubstituiertes arom. Syst.) cm⁻¹.

12.5.17 Synthese von 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (73)

Die Entschützung der Aminogruppe von 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**) erfolgte in Analogie zu GARIBAY *et al.*^[205]. Hierzu wurde 2,2,2-Trifluoro-*N*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethyl)acetamid (**72**) (4.72 g, 10.5 mmol) in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran (80 mL) und Methanol (100 mL) gelöst und eine Lösung, bestehend aus Natriumhydroxid (2.10 g, 52.5 mmol) in dest. Wasser (50 mL), hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde 2 h bei Raumtemp. gerührt und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Zu dem Rückstand wurden Chloroform (100 mL) und dest. Wasser (80 mL) gegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässr. Phase mit Chloroform (dreimal mit je 40 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (**73**) wurde als blassgelbes Öl erhalten, welches innerhalb von 2 d im Vakuum auskristallisierte.

Ausbeute: 3.02 g (8.55 mmol, 82 %)

Lit.^[205]: 90 %

Elementaranalyse (C₂₄H₂₃N₃):

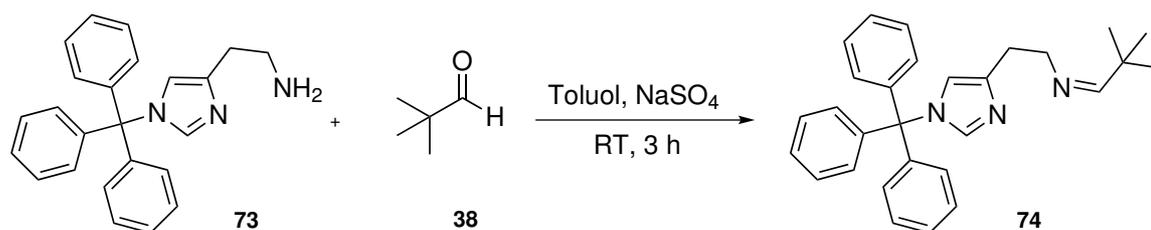
	C %	H %	N %
berechnet	81.55	6.56	11.89
gefunden	80.42	6.91	11.34

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 7.36 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, Imidazol H-2), 7.34-7.08 (m, 15H, Phenyl H-2, H-3, H-4, H-5, H-6), 6.58 (s, 1H, Imidazol H-5), 2.95 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂-CH₂-NH₂), 2.65 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂-CH₂-NH₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K): δ = 142.7 (C, 3C, Phenyl C-1), 139.6 (C, 1C, Imidazol C-4), 138.8 (CH, 1C, Imidazol C-2), 129.9 (CH, 6H, Phenyl C-3, C-5), 128.1 (CH, 6C, Phenyl C-2, C-6), 128.0 (CH, 3C, Phenyl C-4), 118.7 (CH, 1C, Imidazol C-5), 75.2 (C, 1C, C-(Phenyl)₃), 42.0 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 28.3 (CH_2 , 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3373 (w, NH-Val.), 3053 (w, CH-Val. arom.), 2922 (w, CH-Val. aliph.), 1600 (w, NH-Deformationsschwing.), 1491 (m, C=N-Val., konj. cycl. Syst.), 749, 703 (s, CH-Deformationsschwing, monosubstituiertes. arom. Syst.) cm^{-1} .

12.5.18 Synthese von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**L_{imz}1**, **74**)



Die Iminkondensation von 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethanamin (**73**) und Trimethylacetaldehyd (**38**) wurde unter verschiedenen Syntheseparameter, wie Dauer der Synthese, Konzentrationsverhältnisse der Edukte, Temperatur sowie unterschiedliche Arten und Kombinationen der Aufreinigung (Extraktion und/oder Umkristallisation sowie Filtration) durchgeführt. Die angegebenen Produkt-zu-Eduktverhältnisse wurden den entsprechenden NMR-spektroskopischen Daten entnommen (Tabelle 12.2).

Kapitel 12: Durchgeführte Synthesen

Tabelle 12.2: Übersicht der Reaktionsbedingungen der jeweiligen Reaktionsansätze für die Synthese von *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)ethanamin (**74**)

Ansatz-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Amin : Aldehyd	1 : 1.8	1 : 1.8	1 : 1.8	1 : 2	1 : 1.8	1 : 2.4	1 : 1.8	1 : 1.2	1 : 1.8	1 : 2	1 : 2
Lösungsmittel	Toluol	Toluol	Toluol	Toluol	Toluol	Toluol	Toluol	Chloroform	Methanol	Toluol	Toluol
Reaktionsdauer	3 d	7 d	1 d, 6 d	7 d	6 d	6 d	16 h	4 d	1 d	1 d	7 d
Temperatur	145 °C	145 °C	150 °C	150 °C	150 °C	150 °C	Raumtemp.	60 °C	78 °C	80 °C	150 °C
<i>p</i>-Toluol-sulfonsäure	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Ja	Ja
Wasserabscheider	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	x	x	Ja	x	x	Ja
Produkt : Edukt	2 : 1	x	1.4 : 1	1 : 1	4 : 1	3 : 1	4 : 1	x	x	x	x
Umkristallisation in Acetonitril	Ja	Ja	x	x	Ja	Ja	x	x	x	x	x
Extraktion mit <i>n</i>-Hexan	x	x	Ja	Ja	x	x	Ja	x	x	x	x
Filtration	x	x	x	Ja	Ja	x	x	x	x	x	x
Produkt : Edukt	3 : 1	2.5 : 1	2.5 : 1	2.5 : 1	2 : 1	2 : 1	3 : 1	x	x	x	x

Es wurde ein weiterer Versuch unternommen, das gewünschte Produkt **74** zu erhalten. Hierzu wurden 2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (**73**) (1.00 g, 2.83 mmol), Trimethylacet-aldehyd (**38**) (620 μ L, 5.66 mmol, 2 Äq.) und NaSO₄ (10.1 g, 70.7 mmol, 25 Äq.) in abs. Toluol (15 mL) gelöst. Die Suspension wurde 3 h bei Raumtemp. gerührt. Der Rückstand wurde mittels Spritzenfilter abfiltriert und mit abs. Toluol (zweimal mit je 3 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde vorsichtig i. Vak. in der Hitze entfernt, bis die Lösung leicht trüb wurde. Nach 24 h wurde der entstandene blassgelbe Niederschlag abfiltriert und intensiv mit abs. Acetonitril gewaschen. Der erhaltene farblose Feststoff wurde i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 728 mg (1.23 mmol, 61 %)

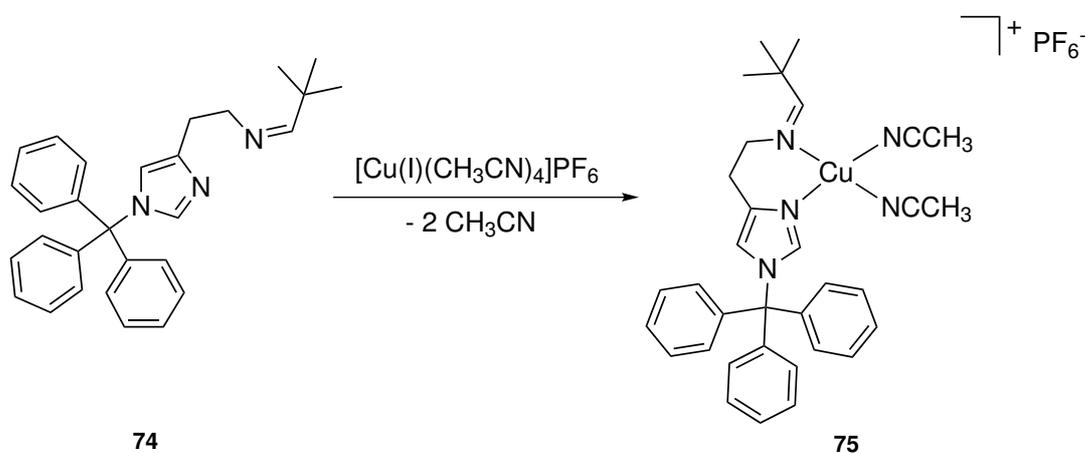
Elementaranalyse (C₂₉H₃₁N₃):

	C %	H %	N %
berechnet	82.62	7.41	9.97
gefunden	82.56	7.50	9.90

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 7.46 (t, J = 1.2 Hz, 1H, Imidazol H-2), 7.37-7.27 (m, 9H, Ar-H), 1.15-7.10 (m, 6H, Ar-H), 6.56 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.64 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂-N), 2.82 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂-N), 0.97 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 172.5 (CH, 1C, N=CH-C(CH₃)₃), 142.8 (C, 3C, Phenyl C-1), 139.5 (C, 1C, Imidazol C-4), 138.4 (CH, 1C, Imidazol C-2), 129.9 (CH, 6C, Phenyl C-3, C-5), 128.1 (CH, 6C, Phenyl C-2, C-6), 128.0 (CH, 3C, Phenyl C-4), 118.7 (CH, 1C, Imidazol C-5), 75.2 (C, 1C, N-C-(C₆H₅)₃), 60.6 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 36.0 (C, 1C, N=CH-C(CH₃)₃), 30.2 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 27.1 (C, 3C, N=CH-C(CH₃)₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2967, 2869 (m, aliph. CH-Val.), 1624 (m, arom. C=C-Val.), 1631 (m, C=C, C=N-Val., Imidazol, Imin), 1478, 1448 (m, CH-Deformationsschwing.), 938 (s, arom. C=C-Val.) cm⁻¹.

12.5.19 Synthese von $[\text{Cu}(\text{I})(\text{L}_{\text{imz}}\text{1})(\text{CH}_3\text{CN})_2]\text{PF}_6$ ($\text{CuL}_{\text{imz}}\text{1}$, **75**)


Unter inerten Bedingungen wurde *N*-(2,2-Dimethylpropyliden)-2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamin (**74**) (100 mg, 237 μmol) in abs. Acetonitril (8 mL) vorgelegt und Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)hexafluorophosphat (88.4 mg, 237 μmol), gelöst in abs. Acetonitril (5 mL), unter Rühren tropfenweise zu der Lösung hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde 30 min unter N_2 -Atmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. ergab **75** als farbloses, kristallines Pulver.

Ausbeute: 159 mg (223 μmol , 94 %)

Elementaranalyse ($\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{CuF}_6\text{N}_5\text{P}$):

	C %	H %	N %
berechnet	55.50	5.50	9.81
gefunden	55.11	5.32	9.95

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 7.62$ (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 7.51 (s, 1H, Imidazol H-2), 7.42-7.35 (m, 9H, Ar-H), 7.20-7.11 (m, 6H, Ar-H), 6.79 (s, 1H, Imidazol H-5), 3.64 (dd, $J = 10.5, 5.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$), 2.70 (dd, $J = 15.1, 9.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$), 1.96 (s, 6H, CH_3CN), 1.09 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 177.2$ (CH, 1C, $\text{N}=\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 141.6 (C, 3C, Phenyl C-1), 140.2 (C, 1C, Imidazol C-4), 139.4 (CH, 1C, Imidazol C-2), 130.5 (CH,

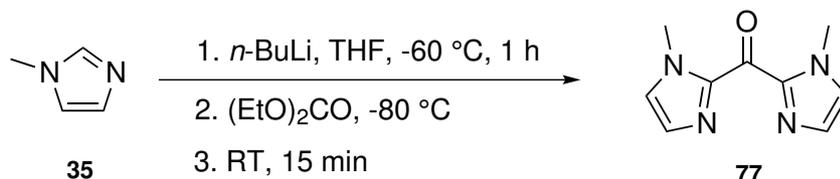
6C, Phenyl C-3, C-5), 129.3 (CH, 3C, Phenyl C-4), 129.2 (CH, 6C, Phenyl C-2, C-6), 118.3 (CH, 1C, Imidazol C-5), 76.9 (C, 1C, N-C-(C₆H₆)₃), 62.4 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 36.6 (C, 1C, N=CH-C(CH₃)₃), 29.6 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 27.4 (C, 3C, N=CH-C(CH₃)₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2964 (s, CH-Val.), 1652, 1508 (s, Imin-Val.), 1447 (m, CH₃-Val.), 984 (s, arom. C=C-Val.), 829 (s, PF₆-Val.) cm⁻¹.

Raman: $\tilde{\nu}$ = 3075, 2975, 2896 (s, arom. CH-Val.), 1650, 1585 (w, C=C, C=N-Val.), 1436, 1342, 1192, 1153, 1034, 999 (w, CH-Deformationsschwing.) cm⁻¹.

12.6 Synthese eines symmetrischen Modellsystems

12.6.1 Synthese von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methanon (77)



Der erste Schritt der Synthese von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methanon (**77**) wurde unter N_2 -Atmosphäre durchgeführt. 1-Methylimidazol (**35**) (15.0 g, 14.6 mL, 183 mmol) wurde in abs. THF (150 mL) gelöst und mittels eines Gemisches aus Aceton / Stickstoff auf $-45 \text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Es wurde langsam eine 2.5 M *n*-BuLi-Lösung in *n*-Hexan (11.7 g, 73.2 mL, 183 mmol) hinzutropft. Die gelbe Lösung wurde, entgegen der Vorschrift, bei $-60 \text{ }^\circ\text{C}$ 1 h gerührt, da bei Temperaturen unterhalb von $-60 \text{ }^\circ\text{C}$ keine Umsetzung stattfand. Anschließend erfolgte bei $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ die tropfenweise Zugabe von Diethylcarbonat (10.8 g, 11.7 mL, 91.1 mmol). Die Reaktionslösung wurde innerhalb von 5 h auf $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt und anschließend dest. Wasser (15 mL) zu der braunen Lösung hinzugefügt. Die Lösung wurde auf Raumtemp. erwärmt und das THF i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan (dreimal mit je 50 mL) extrahiert. Der wachsartige Feststoff, der während der Extraktion ausfiel, wurde abfiltriert. Die vereinigten org. Phasen wurden über NaSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, welches aus Aceton (11 mL) umkristallisiert wurde. Bis(1-methylimidazol-2-yl)methanon (**77**) wurde als farblose Kristalle erhalten.

Ausbeute: 1.75 g (9.20 mmol, 79 %)

Lit.^[173]: 68 %

Elementaranalyse ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$):

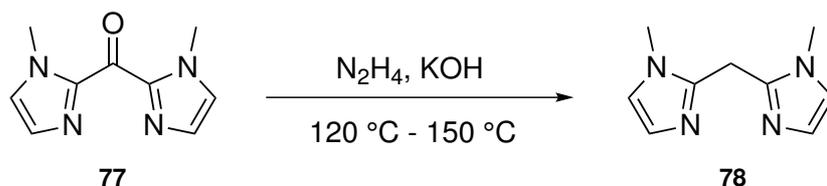
	C %	H %	N %
berechnet	56.83	5.30	29.46
gefunden	56.63	5.59	29.25

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 7.23 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, Imidazol H-5), 7.02 (d, *J* = 0.6 Hz, 1H, Imidazol H-4), 3.94 (s, 3H, N-CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 174.1 (C, 1C, C-C(=O)-C), 143.0 (C, 2C, Imidazol C-2), 130.5 (CH, 2C, Imidazol C-4), 126.7 (CH, 2C, Imidazol C-5), 36.0 (CH₃, 2C, N-CH₃) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3115 (m, CH-Val. arom.), 3094 (m, NCH₃-Val.), 2947 (w, CH-Val. aliph.), 1487 (s, C=N-Val., konj. cycl. Syst.), 1291 (s, CN-Val.), 791 (s, CH-Deformationsschwing, 2 benachbarte. H-Atome im arom. Syst.) cm⁻¹.

12.6.2 Synthese von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (BIMZ, 78)



Für die Reduktion der Keton-Funktion von Bis(1-methylimidazol-2-yl)methanon (**77**) wurden Bis(1-methylimidazol-2-yl)methanon (**78**) (1.75 g, 9.20 mmol) und gemörsertes Kaliumhydroxid (1.75 g, 21.2 mmol, 3.4 Äq.) unter N₂-Atmosphäre in einer Hydrazinmonohydrat-Lösung (16.1 g, 30.0 mL, 322 mmol, 35 wt% in Wasser) gelöst und langsam auf 60 °C erhitzt, bis ein gelber Feststoff ausfiel. Anschließend wurde auf 120 °C erhitzt, bis der Feststoff sich wieder löste und 1 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 3 h bei 150 °C gerührt und die Lösung über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (40 mL) versetzt und anschließend mit Dichlormethan (viermal mit je 50 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit dest. Wasser (zweimal mit je 5 mL) extrahiert, um das überschüssige Hydrazin zu entfernen. Die vereinigten wässr. Phasen wurden im Anschluss mit Dichlormethan (12-mal mit je 20 mL) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden über NaSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**78**) wurde nach Umkristallisation aus THF (5 mL) als farblose, nadelförmige Kristalle erhalten.

Ausbeute: 1.18 g (6.72 mmol, 73 %)

Lit.^[173]: 83 %

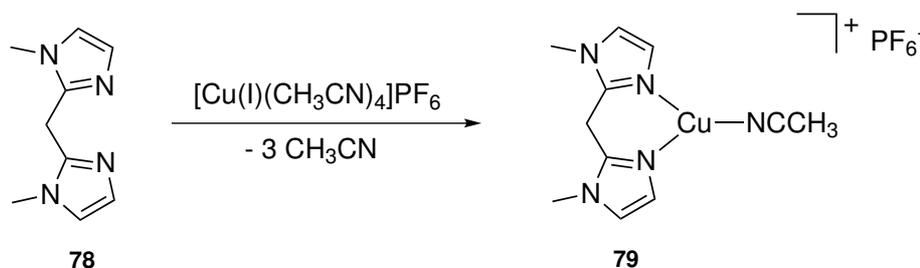
Elementaranalyse (C₉H₁₂N₄):

	C %	H %	N %
berechnet	61.34	6.86	31.79
gefunden	61.70	7.26	31.76

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 6.89 (s, 2H, Imidazol H-4), 6.76 (s, 2H, Imidazol H-5), 4.21 (s, 2H, CH₂), 3.64 (s, 6H, N-CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 143.6 (C, 2C, Imidazol C-2), 127.3 (CH, 2C, Imidazol C-4), 121.6 (CH, 2C, Imidazol C-5), 33.2 (CH₃, 2C, CH₃), 27.0 (CH, 1C, CH₂) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3115 (m, CH-Val. arom.), 3094 (m, NCH₃-Val.), 2947 (w, CH-Val. aliph.), 1487 (s, C=N-Val., konj. cycl. Syst.), 1291 (s, CN-Val.), 791 (s, CH-Deformationsschwing., 2 benachbarte H-Atome im arom. Syst.) cm⁻¹.

12.6.3 Synthese von [Cu(I)(BIMZ)(CH₃CN)]PF₆ (CuBIMZ, 79)


Unter inerten Bedingungen wurde Bis(1-methylimidazol-2-yl)methan (**78**) (100 mg, 567 μmol) in abs. Acetonitril (8 mL) vorgelegt und Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat (212 mg, 567 μmol), gelöst in abs. Acetonitril (5 mL), unter Rühren tropfenweise zu der Lösung hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde 30 min unter N₂-Atmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. ergab ein farbloses, kristallines Pulver.

Ausbeute: 232 mg (545 μmol, 96 %)

Elementaranalyse (C₁₁H₁₅CuF₆N₅P):

	C %	H %	N %
berechnet	31.03	3.55	16.45
gefunden	31.29	3.56	16.53

¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆, 300 K): δ = 7.41 (s, 2H, Imidazol H-4), 7.13 (s, 2H, Imidazol H-5), 4.79 (s, 2H, CH₂), 3.88 (s, 6H, CH₃), 2.08 (s, 3H, NCCH₃) ppm.

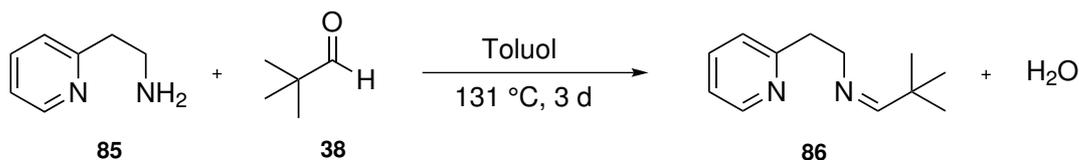
¹³C-NMR (100.6 MHz, Aceton-d₆, 300 K): δ = 145.1 (C, 2C, Imidazol C-2), 127.9 (CH, 2C, Imidazol C-4), 124.2 (CH, 2C, Imidazol C-5), 117.5 (C, 1C, NCCH₃), 34.2 (CH₃, 2C, CH₃), 25.8 (CH, 1C, CH₂) ppm.

MIR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3170 (w, CH-Val. arom.), 3007 (w, NCH₃-Val.), 2944 (w, CH-Val. aliph.), 1519 (m, C=N-Val., konj. cycl. Syst.), 1292 (m, C-N-Val.), 829 (s, PF₆-Val.) cm⁻¹.

Raman: $\tilde{\nu}$ = 2944, 2911, 2855 (s, CH-Val.), 2277 (s, C≡N-Val.), 1526 (w, C=C, C=N-Val.), 1453, 1414, 1258, 1088, 938, 802, 741 (w, CH-Deformationsschwing.) cm⁻¹.

12.7 Synthese eines Pyridin-basierten Tyrosinase-Modellsystems

12.7.1 Synthese von 2-[(*tert*-Butyl)iminoethylen](pyrid-2-in) (**L_{py}1**, **86**)



Unter anaeroben Bedingungen wurden 2-(2-Pyridyl)ethylamin (**85**) (1.07 g, 1.05 mL, 8.76 mmol) und Trimethylacetaldehyd (**38**) (793 mg, 1,00 mL, 9.21 mmol, 1.05 Äq.) in abs. Toluol (40 mL) gelöst und 3 d bei 131 °C am Wasserabscheider erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde das Produkt i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Es wurde ein dunkelgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 1.66 g (8.76 mmol, 100 %)

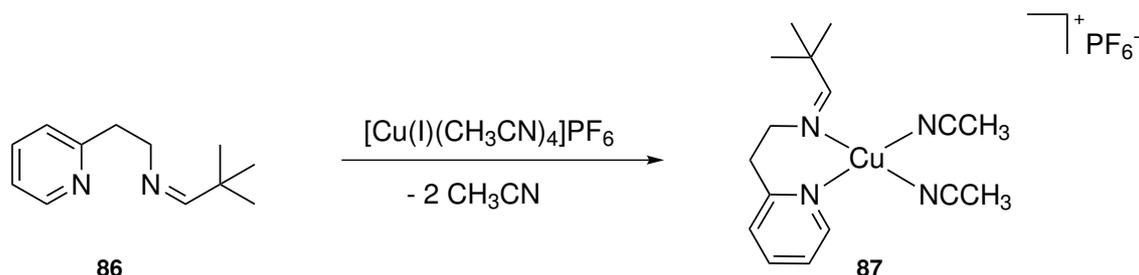
Lit.^[166]: 100 %

Elementaranalyse (C₁₂H₁₈N₂):

	C %	H %	N %
berechnet	75.74	9.53	14.72
gefunden	64.82	8.23	14.01

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 8.52 (ddd, *J* = 4.9, 1.8, 1.0 Hz, 1H, Pyridin H-6), 7.54 (td, *J* = 7.6, 1.9 Hz, 1H, Pyridin H-4), 7.30 (t, *J* = 1.2 Hz, 1H, N=CH-C(CH₃)), 7.12-7.04 (m, 2H, Pyridin H-3, H-5), 3.74 (td, *J* = 7.0, 1.2 Hz, 2H, CH₂-CH₂-N=CH), 3.05 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂-N=CH), 0.93 (s, *J* = 2.2 Hz, 9H, N=CH-C(CH₃)) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 300 K): δ = 173.3 (CH, 1C, N=CH-C(CH₃)), 159.9 (C, 1C, Pyridin C-2), 149.4 (CH, 1C, Pyridin C-6), 136.1 (CH, 1C, Pyridin C-4), 124.2 (CH, 1C, Pyridin C-3), 121.3 (CH, 1C, Pyridin C-5), 60.9 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 39.6 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 36.0 (C, 1C, N=CH-C(CH₃)), 26.9 (CH₃, 3C, N=CH-C(CH₃)) ppm.

12.7.2 Synthese von $[\text{Cu(I)}(\text{L}_{\text{py}}\mathbf{1})(\text{CH}_3\text{CN})_2]\text{PF}_6$ ($\text{CuL}_{\text{py}}\mathbf{1}$, **87**)


Für die Synthese von $[\text{Cu(I)}(\text{L}_{\text{py}}\mathbf{1})(\text{CH}_3\text{CN})_2]\text{PF}_6$ (**87**) ($\text{CuL}_{\text{py}}\mathbf{1}$) wurde unter Schlenkbedingungen 2-[(*tert*-Butyl)iminoethylen](pyrid-2-in) (**86**) (100 mg, 268 μmol) in abs. Acetonitril (8 mL) vorgelegt und langsam unter Rühren Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat (196 mg, 268 μmol), gelöst in abs. Acetonitril (5 mL), zu der Lösung hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min unter N_2 -Atmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. ergab ein gelbes, kristallines Pulver.

Ausbeute: 113 mg (235 μmol , 87 %)

Lit.^[166]: 41 %

Elementaranalyse ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{CuF}_6\text{N}_4\text{P}$):

	C %	H %	N %
berechnet für $[\text{Cu(I)}(\text{L}_{\text{py}}\mathbf{1})(\text{CH}_3\text{CN})_2]\text{PF}_6$	39.96	5.03	11.65
berechnet für $[\text{Cu(I)}(\text{L}_{\text{py}}\mathbf{1})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{PF}_6$	38.23	4.81	9.55
gefunden	38.08	4.67	9.67

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3CN , 300 K): δ = 8.47 (ddd, J = 5.1, 1.6, 0.8 Hz, 1H, Pyridin H-6), 7.78 (td, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H, Pyridin H-4), 7.66 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)$), 7.33-7.29 (m, 2H, Pyridin H-3, H-5), 3.76 (ddd, J = 6.9, 3.8, 1.3 Hz, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}=\text{CH}$), 3.06-3.00 (m, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}=\text{CH}$), 1.96 (s, 4H, NCCH_3), 1.18 (s, 9H, $\text{N}=\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)$) ppm.

¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃CN, 300 K): δ = 177.6 (CH, 1C, N=CH-C(CH₃)), 161.5 (CH, 1C, Pyridin C-2), 150.1 (CH, 1C, Pyridin C-6), 138.5 (CH, 1C, Pyridin C-4), 125.2 (CH, 1C, Pyridin C-3), 123.3 (C, 1C, Pyridin C-5), 62.1 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 38.3 (CH₂, 1C, CH₂-CH₂-N=CH), 36.5 (C, 1C, N=CH-C(CH₃)), 27.2 (CH₃, 3C, N=CH-C(CH₃)) ppm.

13 Anhang

13.1 Abkürzungsverzeichnis

Raumtemp.	Raumtemperatur
i. Vak.	im Vakuum
Lit.	Literatur
ges.	gesättigt
wässr.	wässrig
R_f	Retentionsfaktor
konz.	konzentriert
THF	Tetrahydrofuran
abs.	absolut
Äq.	Äquivalente
org.	organisch
asym.	antisymmetrisch
DTF	Dichte-Funktional-Theorie
ESR	Elektronenspinresonanz
LiAlH_4	Lithiumaluminiumhydrid
NaOMe	Natriummethanolat
PD	Pulverdiffraktogramm
NaBH_4	Natriumborhydrid
MeOH	Methanol
RT	Raumtemperatur
MgSO_4	Magnesiumsulfat
HCl	Salzsäure
HBF_4	Tetrafluorborsäure
EtOH	Ethanol
CH_3CN	Acetonitril

arom.	aromatisch
NEt ₃	Triethylamin
CuCl ₂	Kupfer(II)chlorid
FeCl ₃	Eisen(III)chlorid
NaPF ₆	Natriumhexafluorophosphat
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaSO ₄	Natriumsulfat
CaCl ₂	Calciumchlorid
<i>p</i> -Tos	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
DMSO	Dimethylsulfoxid
Ph ₃ CCl	Tritylchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
PPh ₃	Triphenylphosphin
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
SOCl ₂	Thionylchlorid
NaCN	Natriumcyanid
HCN	Blausäure
DMF	Dimethylformamid
KOH	Kaliumhydroxid
CBr ₄	Tetrabrommethan
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Buthyllithium
CF ₃ COOH	Trifluoressigsäure
N ₂ H ₄	Hydrazin
NaH	Natriumhydrid
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
bzw.	beziehungsweise
min	Minute/n
MS	Massenspektrometrie

EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
DBU	Diazabicycloundecan
ESI	Elektrosprayionisation
Maldi	Matrix unterstützte Laser-Desorption/Ionisation
UV/Vis	Ultraviolett/visible
DBED	<i>N,N'</i> -Di- <i>tert</i> -butyl-ethylendiamin
Gl.	Gleichung
intramol.	intramolekular
aliph.	aliphatisch
Syst.	System
Deformationsschwing.	Deformationsschwingung
Streckschwing.	Streckschwingung
Val.	Valenz
sek.	sekundär
konj.	konjugiert
cycl.	zyklisch
ACN	Acetonitril
DCM	Dichlormethan
EI	Elektronenstoßionisation

13.2 Kristallographischer Anhang

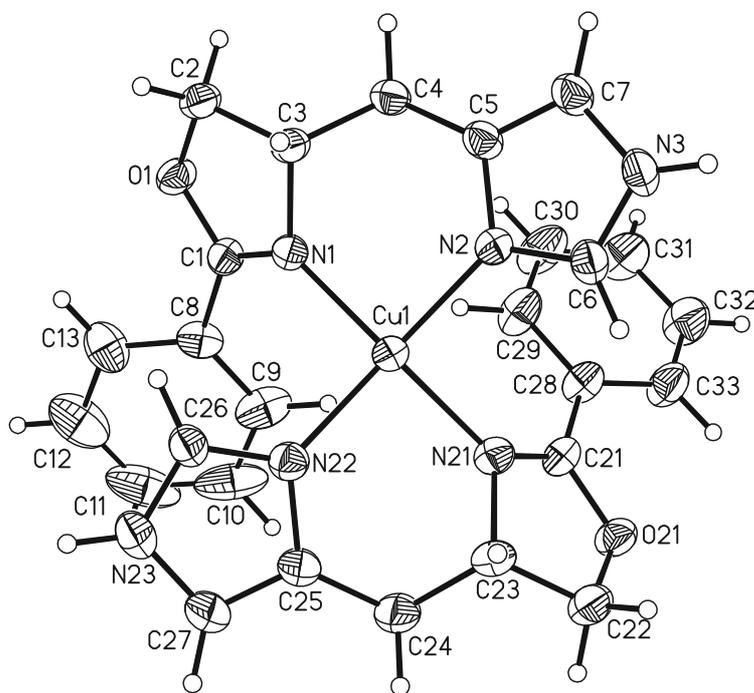
Abbildung 13.1: Molekülstruktur von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{Lor.1})_2]^{2+}$ (Ortep[®]plot).

Tabelle 13.1: Bindungslängen [Å] und Winkel [°].

Cu(1)-N(22)	1.958(4)	Cu(1)-N(21)	1.994(4)
Cu(1)-N(2)	1.961(4)	Cu(1)-N(1)	1.996(4)
N(22)-Cu(1)-N(2)	159.4(2)	N(22)-Cu(1)-N(1)	94.99(17)
N(22)-Cu(1)-N(21)	91.12(18)	N(2)-Cu(1)-N(1)	91.49(16)
N(2)-Cu(1)-N(21)	92.94(18)	N(21)-Cu(1)-N(1)	150.19(19)
C(1)-N(1)-Cu(1)	132.1(3)	C(21)-N(21)-Cu(1)	133.8(4)
C(3)-N(1)-Cu(1)	119.9(3)	C(23)-N(21)-Cu(1)	117.9(4)
C(6)-N(2)-Cu(1)	124.4(3)	C(26)-N(22)-Cu(1)	125.0(3)
C(5)-N(2)-Cu(1)	128.9(3)	C(25)-N(22)-Cu(1)	129.1(4)
N(1)-C(1)	1.285(7)	N(21)-C(21)	1.291(7)
N(1)-C(3)	1.495(5)	N(21)-C(23)	1.491(7)
C(1)-O(1)	1.333(6)	C(21)-O(21)	1.335(6)
C(1)-C(8)	1.476(7)	C(21)-C(28)	1.468(8)
O(1)-C(2)	1.453(7)	O(21)-C(22)	1.455(8)
C(2)-C(3)	1.527(7)	C(22)-C(23)	1.518(8)
C(3)-C(4)	1.520(7)	C(23)-C(24)	1.523(8)
C(4)-C(5)	1.489(7)	C(24)-C(25)	1.487(8)
C(5)-C(7)	1.336(8)	C(25)-C(27)	1.319(9)
C(5)-N(2)	1.398(6)	C(25)-N(22)	1.396(6)
N(2)-C(6)	1.316(7)	N(22)-C(26)	1.328(7)

Kapitel 13: Anhang

C(6)-N(3)	1.311(7)	C(26)-N(23)	1.321(7)
N(3)-C(7)	1.374(7)	N(23)-C(27)	1.386(8)
C(8)-C(9)	1.374(9)	C(28)-C(33)	1.385(9)
C(8)-C(13)	1.390(10)	C(28)-C(29)	1.393(8)
C(9)-C(10)	1.405(11)	C(29)-C(30)	1.384(10)
C(10)-C(11)	1.349(16)	C(30)-C(31)	1.382(11)
C(11)-C(12)	1.386(16)	C(31)-C(32)	1.371(10)
C(12)-C(13)	1.369(11)	C(32)-C(33)	1.377(10)
C(1)-N(1)-C(3)	107.7(4)	C(21)-N(21)-C(23)	108.2(4)
N(1)-C(1)-O(1)	116.7(5)	N(21)-C(21)-O(21)	115.9(5)
N(1)-C(1)-C(8)	127.8(5)	N(21)-C(21)-C(28)	128.5(5)
O(1)-C(1)-C(8)	115.5(5)	O(21)-C(21)-C(28)	115.6(5)
C(1)-O(1)-C(2)	107.3(4)	C(21)-O(21)-C(22)	107.0(4)
O(1)-C(2)-C(3)	104.1(4)	O(21)-C(22)-C(23)	104.6(4)
N(1)-C(3)-C(4)	109.5(4)	N(21)-C(23)-C(22)	102.2(5)
N(1)-C(3)-C(2)	102.7(4)	N(21)-C(23)-C(24)	109.0(5)
C(4)-C(3)-C(2)	114.1(4)	C(22)-C(23)-C(24)	113.9(5)
C(5)-C(4)-C(3)	113.9(4)	C(25)-C(24)-C(23)	114.2(4)
C(7)-C(5)-N(2)	107.3(5)	C(27)-C(25)-N(22)	108.6(5)
C(7)-C(5)-C(4)	131.0(4)	C(27)-C(25)-C(24)	129.1(5)
N(2)-C(5)-C(4)	121.6(4)	N(22)-C(25)-C(24)	122.3(5)
C(6)-N(2)-C(5)	106.2(4)	C(26)-N(22)-C(25)	105.8(5)
N(3)-C(6)-N(2)	111.3(5)	N(23)-C(26)-N(22)	110.9(5)
C(6)-N(3)-C(7)	107.4(4)	C(26)-N(23)-C(27)	107.1(5)
C(5)-C(7)-N(3)	107.6(4)	C(25)-C(27)-N(23)	107.6(5)
C(9)-C(8)-C(13)	120.3(6)	C(33)-C(28)-C(29)	118.3(6)
C(9)-C(8)-C(1)	122.6(6)	C(33)-C(28)-C(21)	119.6(5)
C(13)-C(8)-C(1)	117.0(6)	C(29)-C(28)-C(21)	122.1(6)
C(8)-C(9)-C(10)	118.4(8)	C(30)-C(29)-C(28)	120.8(6)
C(11)-C(10)-C(9)	120.7(9)	C(31)-C(30)-C(29)	119.6(6)
C(10)-C(11)-C(12)	121.1(8)	C(32)-C(31)-C(30)	120.2(7)
C(13)-C(12)-C(11)	118.8(10)	C(31)-C(32)-C(33)	120.2(7)
C(12)-C(13)-C(8)	120.7(9)	C(32)-C(33)-C(28)	120.9(6)
P(1)-F(1)	1.581(4)	P(1)-F(6)	1.588(4)
P(1)-F(4)	1.585(3)	P(1)-F(3)	1.588(3)
P(1)-F(2)	1.588(4)	P(1)-F(5)	1.611(4)
F(1)-P(1)-F(4)	90.8(2)	F(2)-P(1)-F(3)	89.1(2)
F(1)-P(1)-F(2)	90.7(2)	F(6)-P(1)-F(3)	90.1(2)
F(4)-P(1)-F(2)	91.1(2)	F(1)-P(1)-F(5)	179.8(2)
F(1)-P(1)-F(6)	90.4(2)	F(4)-P(1)-F(5)	89.4(2)
F(4)-P(1)-F(6)	89.6(2)	F(2)-P(1)-F(5)	89.4(2)
F(2)-P(1)-F(6)	178.7(2)	F(6)-P(1)-F(5)	89.5(2)
F(1)-P(1)-F(3)	90.16(19)	F(3)-P(1)-F(5)	89.63(19)
F(4)-P(1)-F(3)	179.0(2)		
P(2)-F(11)	1.655(15)	P(2)-F(11')	1.534(16)
P(2)-F(12)	1.582(15)	P(2)-F(12')	1.528(13)
P(2)-F(13)	1.551(15)	P(2)-F(13')	1.53(2)
P(2)-F(14)	1.498(16)	P(2)-F(14')	1.634(18)
P(2)-F(15)	1.556(10)	P(2)-F(15')	1.636(14)
P(2)-F(16)	1.579(13)	P(2)-F(16')	1.557(18)

Kapitel 13: Anhang

F(14)-P(2)-F(13)	94.8(10)	F(13')-P(2)-F(12')	92.2(13)
F(14)-P(2)-F(15)	94.7(10)	F(13')-P(2)-F(11')	91.8(13)
F(13)-P(2)-F(15)	92.7(9)	F(12')-P(2)-F(11')	95.5(11)
F(14)-P(2)-F(16)	89.3(11)	F(13')-P(2)-F(16')	172.4(14)
F(13)-P(2)-F(16)	175.5(10)	F(12')-P(2)-F(16')	95.4(11)
F(15)-P(2)-F(16)	89.0(7)	F(11')-P(2)-F(16')	87.5(11)
F(14)-P(2)-F(12)	91.9(11)	F(13')-P(2)-F(14')	93.4(11)
F(13)-P(2)-F(12)	90.5(10)	F(12')-P(2)-F(14')	89.6(11)
F(15)-P(2)-F(12)	172.4(10)	F(11')-P(2)-F(14')	172.6(11)
F(16)-P(2)-F(12)	87.3(9)	F(16')-P(2)-F(14')	86.7(11)
F(14)-P(2)-F(11)	176.4(10)	F(13')-P(2)-F(15')	84.2(11)
F(13)-P(2)-F(11)	83.6(8)	F(12')-P(2)-F(15')	172.1(11)
F(15)-P(2)-F(11)	88.5(8)	F(11')-P(2)-F(15')	91.6(10)
F(16)-P(2)-F(11)	92.3(9)	F(16')-P(2)-F(15')	88.2(10)
F(12)-P(2)-F(11)	85.0(9)	F(14')-P(2)-F(15')	83.6(9)

Tabelle 13.2: Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und Äquivalente isotrope Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). $U(\text{eq})$ ist definiert als Drittel der Spur des orthogonalisierten U^{ij} Tensors.

	x	y	z	U(eq)
Cu(1)	5281(1)	5874(1)	5834(1)	42(1)
N(1)	4472(3)	5624(3)	4847(2)	43(1)
C(1)	3716(4)	5100(4)	4706(3)	45(1)
O(1)	3381(3)	5061(3)	3956(2)	52(1)
C(2)	3927(4)	5735(5)	3510(3)	52(1)
C(3)	4779(4)	6037(3)	4075(2)	43(1)
C(4)	5853(4)	5725(4)	3843(3)	49(1)
C(5)	6685(4)	6032(4)	4388(3)	47(1)
N(2)	6551(3)	6039(3)	5215(2)	45(1)
C(6)	7440(4)	6289(4)	5520(3)	51(1)
N(3)	8120(3)	6452(4)	4961(3)	54(1)
C(7)	7655(4)	6283(4)	4241(3)	53(1)
C(8)	3143(5)	4552(4)	5282(3)	54(1)
C(9)	3598(7)	4197(5)	5947(3)	73(2)
C(10)	2973(11)	3738(6)	6491(4)	104(4)
C(11)	1953(11)	3637(7)	6355(6)	114(4)
C(12)	1490(8)	3995(7)	5685(6)	108(3)
C(13)	2089(6)	4449(5)	5153(5)	75(2)
N(21)	6045(4)	5452(3)	6791(2)	47(1)
C(21)	6697(4)	4825(4)	6915(3)	50(1)
O(21)	7060(3)	4756(3)	7657(2)	56(1)
C(22)	6663(5)	5505(5)	8102(3)	60(2)
C(23)	5835(4)	5894(5)	7567(3)	52(1)
C(24)	4737(5)	5680(5)	7829(3)	62(2)
C(25)	3922(4)	6047(5)	7301(3)	57(2)

N(22)	4074(3)	6166(3)	6484(2)	46(1)
C(26)	3184(4)	6469(4)	6203(3)	51(1)
N(23)	2495(4)	6548(5)	6779(3)	72(2)
C(27)	2964(5)	6266(6)	7476(4)	74(2)
C(28)	7089(5)	4172(5)	6347(3)	57(1)
C(29)	6586(6)	3992(5)	5631(4)	69(2)
C(30)	6971(7)	3369(6)	5109(4)	85(2)
C(31)	7868(7)	2924(6)	5299(4)	85(2)
C(32)	8379(7)	3104(6)	5996(4)	85(2)
C(33)	7992(6)	3721(6)	6517(4)	73(2)
P(1)	10773(1)	6640(1)	4003(1)	47(1)
F(1)	11449(3)	5991(3)	3484(2)	68(1)
F(2)	10285(3)	5835(3)	4473(2)	68(1)
F(3)	9862(3)	6571(3)	3372(2)	66(1)
F(4)	11671(3)	6724(3)	4640(2)	64(1)
F(5)	10081(3)	7302(2)	4528(2)	60(1)
F(6)	11235(3)	7457(3)	3536(2)	64(1)
P(2)	-439(1)	6661(1)	7324(1)	55(1)
F(11)	-58(12)	7677(10)	7517(11)	78(4)
F(12)	-883(17)	6677(14)	8203(9)	94(6)
F(13)	-1426(12)	7123(13)	7012(12)	83(5)
F(14)	-838(18)	5750(12)	7186(14)	128(9)
F(15)	110(11)	6729(10)	6502(6)	89(4)
F(16)	582(13)	6256(12)	7685(9)	104(6)
F(11')	291(14)	7453(12)	7378(13)	96(6)
F(12')	-655(19)	6608(16)	8218(8)	94(8)
F(13')	-1371(19)	7255(18)	7184(16)	122(10)
F(14')	-1104(15)	5760(14)	7193(12)	74(5)
F(15')	-363(12)	6650(14)	6351(8)	99(6)
F(16')	538(15)	6065(17)	7346(13)	123(8)

Tabelle 13.3: Anisotrope Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). Der Temperaturfaktorexponent hat die Form:

$$-2\pi^2[h^2 a^*2U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$$

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
Cu(1)	41(1)	47(1)	37(1)	2(1)	-1(1)	2(1)
N(1)	40(2)	49(3)	41(2)	6(2)	1(2)	-2(2)
C(1)	44(3)	47(3)	44(2)	1(2)	-4(2)	-1(2)
O(1)	52(2)	61(3)	42(2)	1(2)	-8(2)	-12(2)
C(2)	53(3)	65(4)	40(2)	9(2)	-4(2)	-8(3)
C(3)	46(2)	48(3)	35(2)	4(2)	-2(2)	-4(2)
C(4)	47(3)	60(4)	39(2)	-3(2)	5(2)	-4(3)
C(5)	44(3)	51(4)	45(2)	-9(2)	6(2)	-4(2)
N(2)	43(2)	53(3)	38(2)	-3(2)	-2(2)	1(2)
C(6)	39(3)	55(4)	58(3)	-5(2)	0(2)	2(3)

Kapitel 13: Anhang

N(3)	35(2)	65(4)	63(3)	-16(2)	4(2)	-3(2)
C(7)	46(3)	63(4)	50(3)	-14(3)	9(2)	0(3)
C(8)	69(4)	43(3)	51(3)	-2(2)	9(3)	-11(3)
C(9)	112(5)	50(4)	58(3)	8(3)	-10(3)	-26(4)
C(10)	195(11)	68(6)	49(3)	2(3)	14(5)	-46(7)
C(11)	164(10)	81(7)	97(6)	-24(5)	69(7)	-62(7)
C(12)	102(6)	91(7)	133(8)	-2(6)	47(6)	-36(6)
C(13)	60(4)	65(5)	100(5)	1(4)	12(4)	-12(3)
N(21)	53(3)	47(3)	42(2)	-2(2)	-2(2)	2(2)
C(21)	52(3)	53(4)	44(2)	2(2)	-12(2)	0(3)
O(21)	63(2)	61(3)	43(2)	7(2)	-8(2)	8(2)
C(22)	66(4)	66(4)	47(3)	-4(3)	-9(3)	3(3)
C(23)	61(3)	57(4)	37(2)	3(2)	0(2)	0(3)
C(24)	64(3)	77(5)	46(2)	14(2)	3(3)	-7(4)
C(25)	52(3)	75(5)	44(2)	12(3)	7(2)	-2(3)
N(22)	47(2)	47(3)	44(2)	3(2)	1(2)	-1(2)
C(26)	42(3)	56(4)	54(3)	3(2)	4(2)	1(3)
N(23)	46(3)	99(5)	71(3)	10(3)	12(2)	11(3)
C(27)	57(4)	112(7)	54(3)	14(3)	14(3)	7(4)
C(28)	67(3)	51(4)	53(3)	0(3)	-14(2)	4(3)
C(29)	79(4)	57(4)	70(3)	-14(3)	-24(3)	18(4)
C(30)	112(6)	71(5)	72(4)	-27(4)	-31(4)	28(5)
C(31)	104(6)	73(5)	77(4)	-24(4)	-12(4)	36(5)
C(32)	88(5)	86(6)	81(5)	-8(4)	-12(4)	36(5)
C(33)	72(4)	84(6)	61(3)	-8(3)	-20(3)	24(4)
P(1)	40(1)	49(1)	53(1)	-1(1)	0(1)	-2(1)
F(1)	49(2)	72(3)	84(2)	-20(2)	8(2)	0(2)
F(2)	62(2)	53(2)	90(2)	11(2)	11(2)	-7(2)
F(3)	46(2)	75(3)	76(2)	-12(2)	-12(2)	-3(2)
F(4)	59(2)	75(3)	60(2)	2(2)	-14(2)	-1(2)
F(5)	58(2)	56(2)	67(2)	-10(2)	7(2)	3(2)
F(6)	68(2)	65(2)	60(2)	12(2)	-3(2)	-17(2)
P(2)	51(1)	57(1)	56(1)	8(1)	1(1)	1(1)
F(11)	85(9)	63(7)	87(6)	7(5)	-8(6)	-5(6)
F(12)	101(9)	97(11)	84(10)	-22(8)	39(8)	0(8)
F(13)	69(7)	80(8)	99(9)	-28(7)	-51(6)	12(6)
F(14)	210(20)	50(10)	121(12)	-23(8)	24(13)	-31(11)
F(15)	116(10)	96(9)	57(6)	17(5)	31(6)	17(8)
F(16)	70(7)	127(13)	115(10)	59(9)	21(6)	52(8)
F(11')	93(12)	70(11)	127(14)	20(9)	-46(11)	-39(10)
F(12')	131(16)	114(15)	37(7)	29(8)	-15(7)	-12(11)
F(13')	132(18)	112(17)	121(15)	-31(12)	-38(11)	66(14)
F(14')	69(6)	75(12)	79(8)	5(7)	-4(5)	-25(6)
F(15')	121(13)	123(11)	52(5)	0(5)	-20(7)	-41(11)
F(16')	54(7)	144(15)	170(20)	8(14)	-15(10)	-18(8)

Tabelle 13.4: Wasserstoffkoordinaten ($\times 10^4$) und isotrope Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \times 10^3$).

	x	y	z	U(eq)
H(2A)	3460	6227	3372	63
H(2B)	4222	5490	3013	63
H(3)	4770	6692	4124	52
H(4A)	5856	5074	3832	58
H(4B)	6008	5934	3297	58
H(6)	7573	6343	6075	61
H(3A)	8757	6636	5033	65
H(7)	7966	6336	3731	64
H(9)	4319	4260	6038	88
H(10)	3272	3495	6959	125
H(11)	1546	3316	6724	137
H(12)	770	3927	5596	130
H(13)	1782	4695	4690	90
H(22A)	7217	5938	8206	72
H(22B)	6365	5313	8617	72
H(23)	5930	6544	7517	62
H(24A)	4658	5033	7850	75
H(24B)	4631	5910	8375	75
H(26)	3059	6610	5660	61
H(23A)	1858	6742	6729	86
H(27)	2651	6237	7987	89
H(29)	5972	4301	5500	83
H(30)	6621	3247	4624	102
H(31)	8132	2491	4945	101
H(32)	9001	2803	6120	102
H(33)	8349	3839	6999	87

13.3 Massenspektren

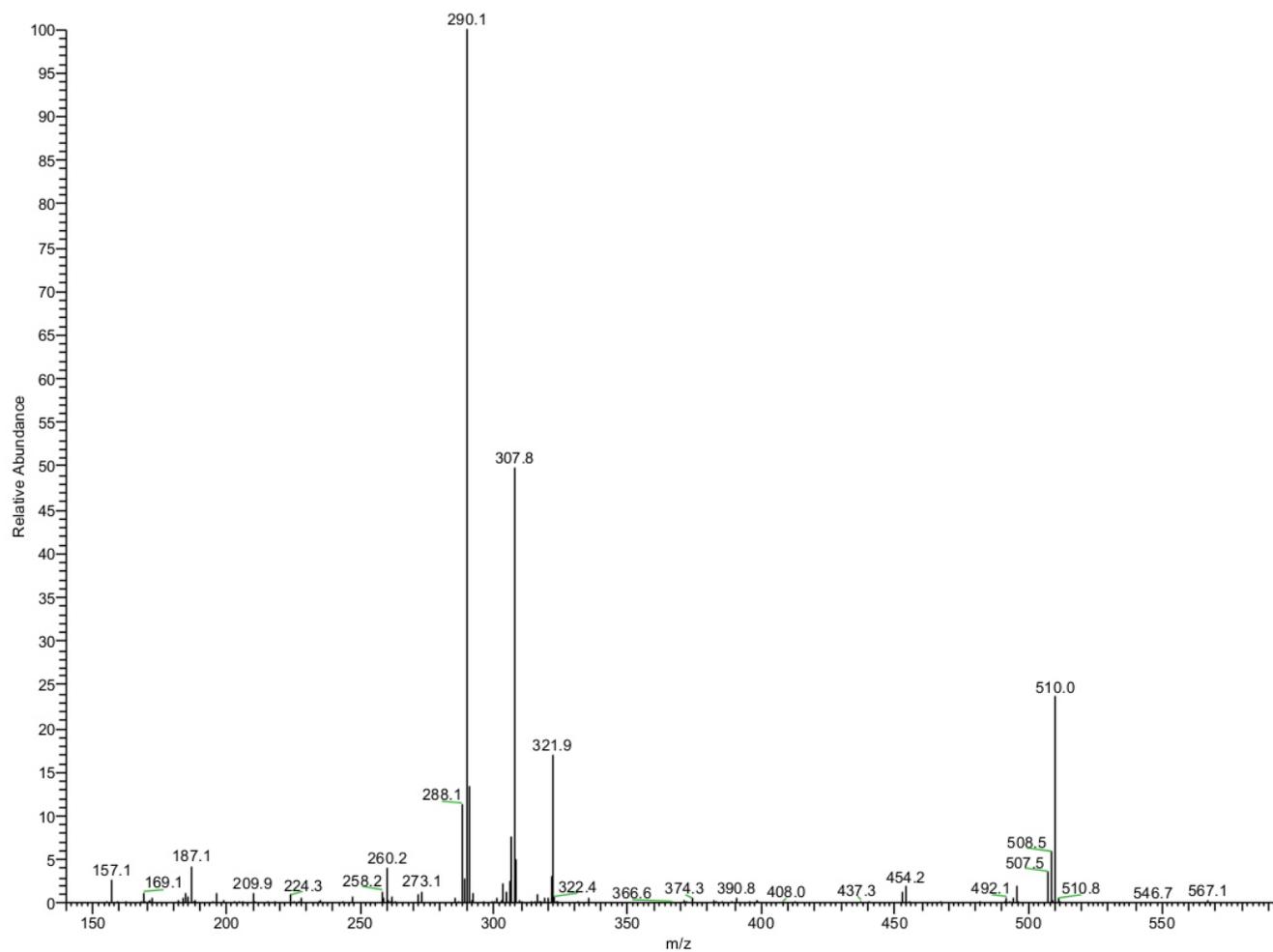


Abbildung 13.2: ESI/MS nach *in-situ* Generation von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{LoL1})(3,5\text{-DTBSQ})]^+$. Messung nach 10 min in CH_2Cl_2 .

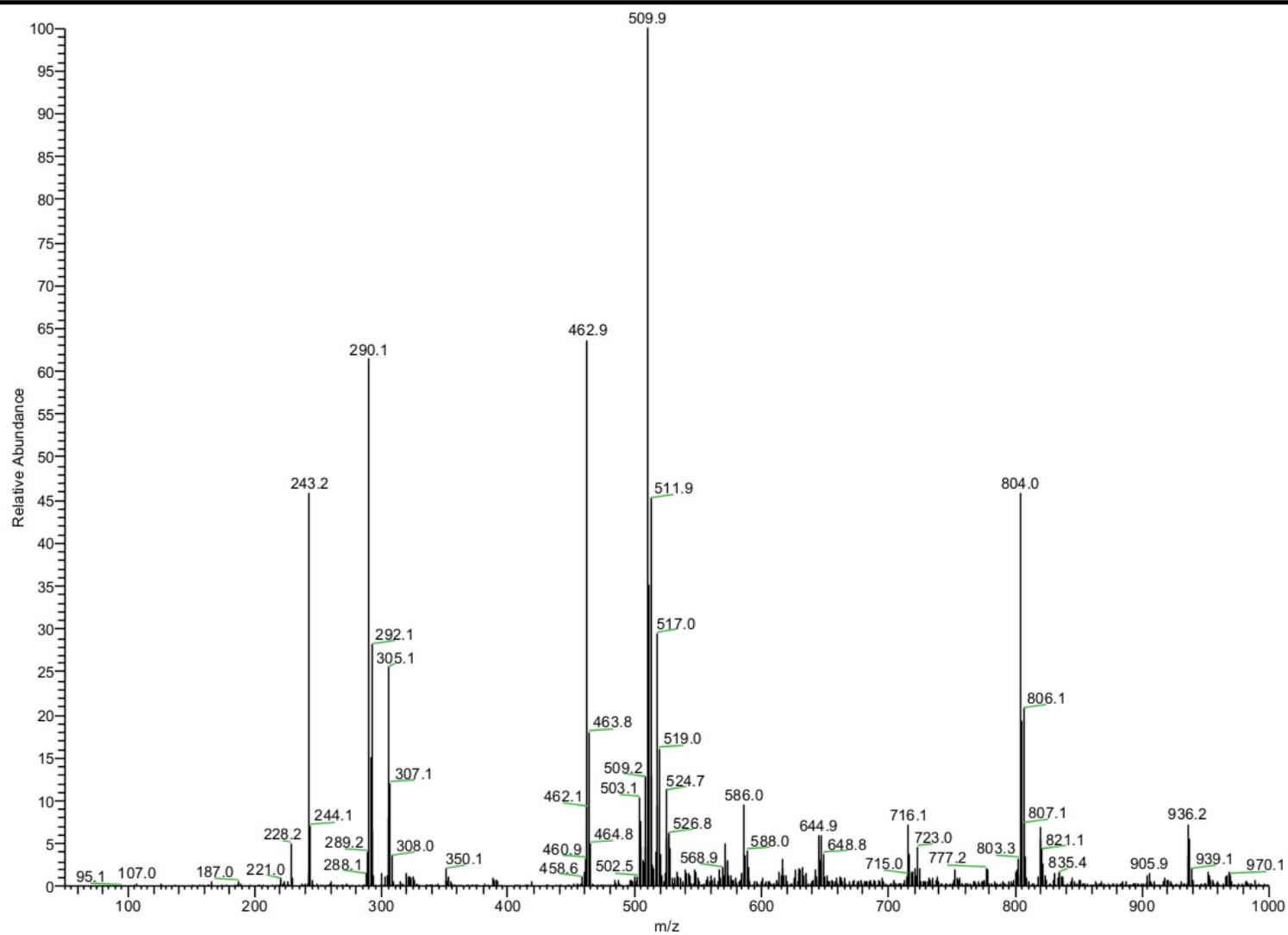


Abbildung 13.3: ESI/MS nach *in-situ* Generation von $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L}_{01},1)(3,5\text{-DTBSQ})]^+$. Messung nach 25 min in CH_2Cl_2 .

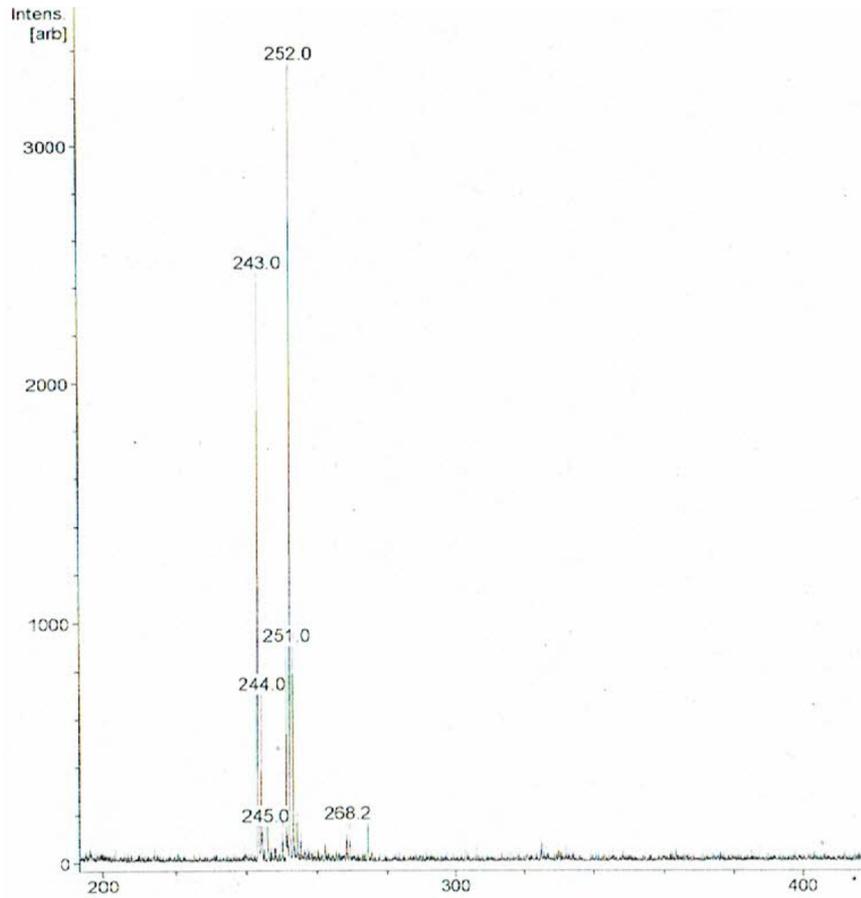


Abbildung 13.4: MALDI-TOF Massenspektrum von *N*-Acetyl-L-dopaethyl ester $m/z = 268.2$ [M + H], 252.0 [NATEE + H] aufgenommen in CH_2Cl_2 .

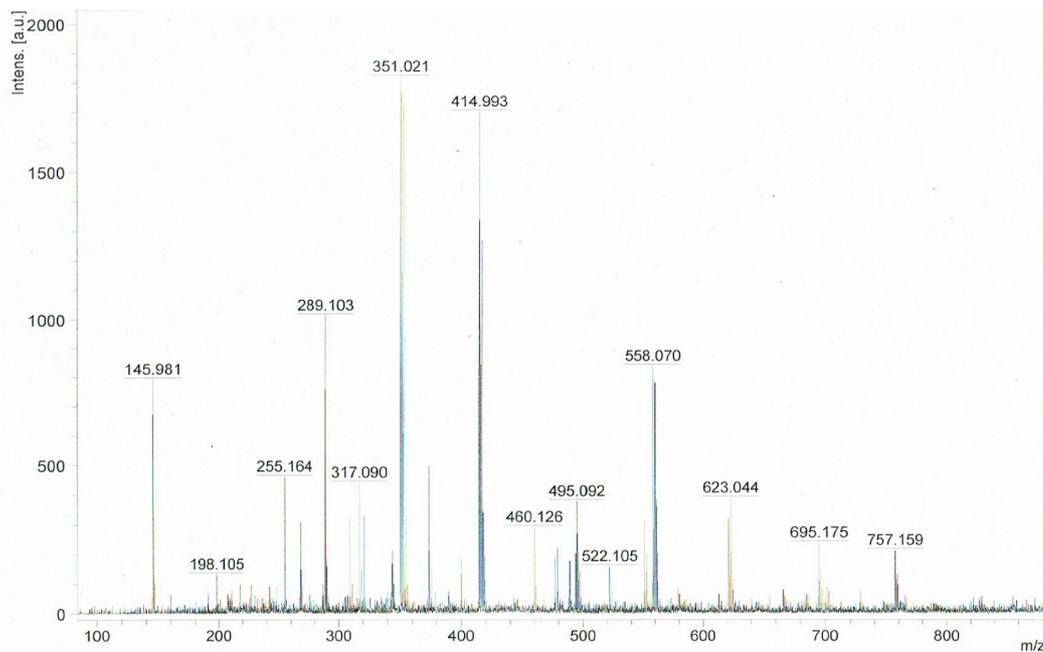


Abbildung 13.5: MALDI-TOF Massenspektrum von [Cu(II)(8-Hydroxyquinolin)] $m/z = 351.02$ [M] aufgenommen in CH_2Cl_2 .

14 Literaturverzeichnis

- [1] A. Müller, P. Kögeler, C. Kühlmann, *Chem. Commun.* **1999**, 1347.
- [2] S. J. Lippard, J. M. Berg, *Bioanorganische Chemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2005**.
- [3] M. Pascaly, I. Jilk, B. Krebs, *Chem. Unserer Zeit* **1999**, 33, 334.
- [4] L. M. Mirica, X. Ottenwaelder, T. Daniel, P. Stack, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 1013.
- [5] I. A. Koval, P. Gamez, C. Belle, K. Selmeczi, J. Reedijk, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 814.
- [6] W. Kaim, B. Schwederski, *Bioanorganische Chemie*, 4 Ed., B. G. Teubner Verlag, Wiesbaden, **2005**.
- [7] J. A. Guckert, M. D. Lowery, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 2817.
- [8] G. S. Kachalova, A. C. Shosheva, G. P. Bourenkov, A. A. Donchev, M. I. Dimitrov, H. D. Bartunik, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, 115, 174.
- [9] N. Sieracki, S. Tian, R. Hadt, J. Zhang, J. Woertink, M. Nilges, F. Sun, E. Solomon, Y. Lu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, 111, 924.
- [10] E. I. Solomon, D. E. Heppner, E. M. Johnston, J. W. Ginsbach, J. Cirera, M. Qayyum, M. T. Kieber-Emmons, C. H. Kjaergaard, R. G. Hadt, L. Tian, *Chem. Rev.* **2014**, 114, 3659.
- [11] M. Rolff, J. Schottenheim, H. Decker, F. Tucek, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 4077.
- [12] E. I. Solomon, U. M. Sundaram, T. E. Machonkin, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2563.
- [13] R. L. Lieberman, A. C. Rosenzweig, *Nature* **2005**, 434, 177.
- [14] B. Kadenbach, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34, 2635.
- [15] T. Tsukihara, H. Aoyama, E. Yamashita, T. Tomizaki, H. Yamaguchi, R. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono, S. Yoshikawa, *Science* **1995**, 269, 1069.
- [16] S. Itawa, C. Ostermeier, B. Ludwig, H. Michel, *Nature* **1995**, 376, 660.
- [17] M. Prudêncio, A. S. Pereira, P. Tavares, S. Besson, I. Cabrito, K. Brown, B. Samyn, B. Devreese, C. Cambillau, I. Moura, *Biochemistry* **2000**, 39, 3899.
- [18] K. Brown, K. Dijnovic-Carugo, T. Haltia, I. Cabrito, M. Saraste, J. J. Moura, I. Moura, M. Tegoni, C. Cambillau, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 41133.

- [19] J. A. D. Cooper, W. Smith, M. Bacila and H. Medina, *J. Biol. Chem.* **1959**, *234*, 445.
- [20] J. P. Klinman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2541.
- [21] 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.
- [22] N. Ito, S. E. V. Phillips, K. D. S. Yadav, P. F. Knowles, *J. Mol. Biol.* **1994**, *238*, 794.
- [23] H. Ikemoto, S. L. Mossin, J. Ulstrup, Q. Chi, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 21939.
- [24] S. Itoh, M. Taki, S. Fukuzumi, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *198*, 3.
- [25] P. Verma, R. C. Pratt, T. Storr, E. C. Wasinger, T. D. P. Stack, *PNAS* **2011**, *108*, 18600.
- [26] R. M. Wachter, M. P. Montague-Smith, B. P. Branchaud, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7743.
- [27] J. A. Halfen, B. A. Jazdzewski, S. Mahapatra, L. M. Berrean, E. C. Wilkinson, L. Que, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8217.
- [28] A. Sokolowski, H. Leutbecher, T. Weyhermüller, R. Schnepf, E. Bothe, E. Bill, P. Hildebrandt, K. Wieghardt, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, *2*, 444.
- [29] J. A. Halfen, Y. G. Young, Jr., W. B. Tolman, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1832, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 1687.
- [30] D. Rokshana, A. E. Howells, d. M. Dooley, R. K. Szilagy, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 3513.
- [31] M. S. Rogers, R. Hurtado-Guerrero, S. J. Firbank, M. A. Halcrow, D. M. Dooley, S. E. V. Phillips, P. F. Knowles, M. J. McPherson, *Biochem.* **2008**, *47*, 10428.
- [32] J. W. Whittaker, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2347.
- [33] C. Wright, A. G. Sykes, *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *85*, 237.
- [34] Y. K. Lee, M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *Biochem.* **2008**, *47*, 6637.
- [35] D. Rokhsana, D. M. Dooley, R. K. Szilagy, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15550.
- [36] D. Rokhsana, D. M. Dooley, R. K. Szilagy, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2008**, *13*, 371.
- [37] G. T. Babcock, M. K. El-Deeb, P. O. Sandusky, M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3727.

- [38] G. J. Gerfen, B. F. Bellew, R. G. Griffin, D. J. Singel, C. A. Ekbergand, J. W. Whittaker, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 16739.
- [39] M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *Biophys. J.* **1993**, *64*, 762.
- [40] B. A. Jazdzewski, W. B. Tolman, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *200*, 633.
- [41] P. Chaudhuri, K. Wieghardt, T. Weymüller, *Prog. Inorg. Chem.* **2001**, *50*, 151.
- [42] C. T. Lyons, T. D. P. Stack, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 528.
- [43] F. Thomas, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *2007*, 2379.
- [44] N. Kitajima, K. Whang, Y. Moro-oka, A. Uchida, Y. Sasada, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, *20*, 1504.
- [45] Y. Wang, T. D. P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13097.
- [46] Y. D. Wang, J. L. DuBois, B. Hedman, K. O. Hodgson, T. D. P. Stack, *Science* **1998**, *279*, 537.
- [47] P. Chaudhuri, M. Hess, U. Flörke, K. Wieghardt, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2340; *Angew. Chem, Int. Ed.* **1998**, *37*, 2217.
- [48] P. Chaudhuri, M. Hess, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1165; *Angew. Chem, Int. Ed.* **1999**, *38*, 1095.
- [49] P. Chaudhuri, M. Hess, J. Müller, K. Hildebrand, E. Bill, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9599.
- [50] T. P. Cheeseman, D. Hall, T. N. Waters, *J. Chem. Soc. (A)* **1966**, 1396.
- [51] D. Hall, T.N. Waters, *J. Chem. Soc.* **1960**, 2644.
- [52] K. Bernardo, S. Leppard, A. Robert, G. Commenges, F. Dahan, B. Meunier, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 387.
- [53] 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.
- [54] E. Bill, J. Müller, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 5795.
- [55] H. Adams, N. A. Bailey, C. O. R. de Barbarin, D. E. Fenton, Q.-Y. He, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1995**, 2323.
- [56] U. Rajendran, R. Viswanathan, M. Palaniandavar, M. Lakshminarayanan, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, 3563.
- [57] S. Ito, S. Nishino, H. Itoh, S. Ohba, Y. Nishida, *Polyhedron* **1998**, *17*, 1637.

- [58] H. Adams, N. A. Bailey, I. K. Campbell, D. E. Fenton, Q.-Y. He, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1996**, 11, 2233.
- [59] R. Uma, R. Viswanathan, M. Palaniandavar, M. Lakshminarayanan, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1994**, 1219.
- [60] S. Itoh, M. Taki, H. Kumei, S. Takayama, S. Nagatomo, T. Kitagawa, N. Sakurada, R. Arakawa, S. Fukuzumi, *Inorg. Chem.* **2000**, 39, 3708.
- [61] F. Thomas, G. Gellon, I. Gautier-Luneau, E. Saint-Aman, J. L. Pierre, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 3173; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3047.
- [62] S. Itoh, S. Takayama, R. Arakawa, A. Furuta, M. Komatsu, A. Ishida, S. Takamuku, S. Fukuzumi, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1407.
- [63] P. Gamez, I. W. C. E. Arends, J. Reedijk, R. A. Sheldon, *Chem. Commun.* **2003**, 19, 2414.
- [64] P. Gamez, I. W. C. E. Arends, R. A. Sheldon J. Reedijk, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 805.
- [65] P. Gamez, I. A. Koval, J. Reedijk, *Dalton Trans.* **2004**, 4079.
- [66] R. M. Wachter, B. P. Branchaud, *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Protein Struct. M.* **1998**, 43, 1384.
- [67] M. Rolff, *Dissertation*, CAU zu Kiel **2010**.
- [68] F. Wendt, M. Rolff, W. Thimm, C. Näther, F. Tuczec, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2013**, 639, 2502.
- [69] M. M. Olmstead, T. E. Patten, S. Troeltzsch, *Inorg. Chim. Acta* **2004**, 357, 619.
- [70] N. M. F. Carvalho, A. Horn Jr., A. J. Bortoluzzi, V. Dragon, O. A. C. Antunes, *Inorg. Chim. Acta* **2006**, 359, 990.
- [71] Eintrag zu Acetaldehyd in der GESTIS-Stoffdatenbank des IFA, abgerufen am 19. Juni **2016**.
- [72] E. Sawicki, T. R. Hauser, T. W. Stanley, W. Elbert, *Anal. Chem.* **1961**, 33, 93.
- [73] F. Wendt, *Diplomarbeit*, CAU zu Kiel **2012**.
- [74] Y. Kani, S. Ohba, S. Ito, Y. Nishiga, *Acta Crystallogr. Sect. C* **2000**, 56, e201.
- [75] M. M. Whittaker, P. J. Kersten, N. Nakamura, J. Sanders-Loehr, E. S. Schweizer, J. W. Whittaker, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 681.
- [76] A. Sokolowski, J. Müller, T. Weyhermüller, R. Schnepf, P. Hildebrandt, K. Hildebrand, E. Bothe, K. Wieghardt, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8889.

- [77] C. G. Gölder, M. Antonietti, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 431.
- [78] F. Michel, F. Thomas, S. Hamman, E. Sait-Aman, C. Bucher, J. L. Pierre, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4115.
- [79] A. Philibert, F. Thomas, C. Philouze, S. Hamman, E. Saint-Aman, J.-L. Pierre, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3803.
- [80] K. Clark, J. E. Penner-Hahn, M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6433; K. Clark, J. E. Penner-Hahn, M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *Biochemistry* **1994**, *33*, 12553.
- [81] M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 6074.
- [82] J. W. Whittaker in *Metalloenzymes Involving Amino Acid Residue and Related Radicals*, vol. 30, Marcel Dekker, New York **1994**, 315.
- [83] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, . Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision A.1*, Gaussian Inc. Wallingford CT **2009**.
- [84] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
- [85] F. Weigend, R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3297.
- [86] H. Decker, N. Hellmann, E. Jaenicke, B. Lieb, U. Meissner, J. Markl, *Integr. Comp. Biol.* **2007**, *47*, 631.
- [87] H. Decker, T. Rimke, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 25889.
- [88] H. M. Chan, J. M. Weeks, *Comp. Biochem. Physiol.* **1992**, *101B*, 567.
- [89] T. Burmester, *Mol. Biol. Evol.* **2001**, *18*, 184.
- [90] J. Markl, H. Decker, *Blood and Tissue Oxygen Carriers*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **1992**, *13*, 325.
- [91] K. E. Van Holde, K. I. Miller, *Adv. Protein Chem.* **1995**, *47*, 1.

- [92] H. Decker, F. Tuczek, *Trends Biochem. Sci.* **2000**, *25*, 392.
- [93] H. Decker, T. Schweikardt, F. Tuczek, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4658; H. Decker, T. Schweikardt, F. Tuczek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4546.
- [94] H. Decker, R. Sterner, *Biol. Metals* **1990**, *3*, 85.
- [95] K. E. Van Holde, K. I. Miller, H. Decker, *J. Biol. Chem.* **2001**, *279*, 15563.
- [96] E. M. Siegbahn, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 577.
- [97] P. A. Riley, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **1997**, *29*, 1235.
- [98] J. Lai-Fook, *J. Insect Physiol.* **1966**, *12*, 195.
- [99] M. Ashida, P. T. Brey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 10698.
- [100] G. Sichel, C. Corsaro, M. Scalia, S. Scinto, E. Geremia, *Cell Biochem. Funct.* **1987**, *5*, 123.
- [101] M. G. Peter, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 572.
- [102] Y.-J. Kim, H. Uyama, *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 1707.
- [103] V. J. Hearing, R. E. Boissy, W. Oetting, *The Pigmentary System: Physiology and Pathophysiology*, 2. Aufl., Wiley-Blackwell, Oxford, **2006**.
- [104] H. S. Raper HS, *Physiol. Rev.* **1928**, *8*, 245.
- [105] H. S. Mason, *J. Biol. Chem.* **1948**, *172*, 83.
- [106] A. Lerner, T. B. Fitzpatrick, E. Calkins, W. H. Summerson, *J. Biol. Chem.* **1949**, *178*, 185.
- [107] V. J. Hearing, M. Jimenez, *Int. J. Biochem.* **1987**, *19*, 1141.
- [108] S. Briganti, E. Camera, M. Picardo, *Pigment Cell Res.* **2003**, *16*, 101.
- [109] S. B. Potterf, V. Virador, K. Wakamatsu, M. Furumura, C. Santis, I. Shosuke, V. J. Hearing, *Pigment Cell Res.* **1999**, *12*, 4.
- [110] C. A. Ramsden, P. A. Riley, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 2388.
- [111] M. Brenner, V. J. Hearing, *Drug discov. today Dis. Mech.* **2008**, *5*, 189.
- [112] C. Olivares, F. Solano, *Pigment Cell Melanoma Res.* **2009**, *22*, 750.
- [113] R. A. Spritz, J. Oh, K. Fukai, S. A. Holmes, L. Ho, D. Chitayat, T. D. France, M. A. Musarella, S. J. Orlow, R. E. Schnur, R. G. Weleber, A. V. Levin, *Human Mutat.* **1997**, *10*, 171.

- [114] D. E. Wilcox, A. G. Porras, Y. T. Hwang, K. Lerch, M. E. Winkler, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4015.
- [115] T. Klabunde, C. Eicken, J. C. Sacchettini, B. Krebs, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, *5*, 1084.
- [116] A. M. Mayer, E. Harel, *Phytochem.* **1979**, *18*, 193.
- [117] Y. M. Jiang, J. R. Fu, G. Zauberman, Y. Fuchs, *J. Sci. Food Agric.* **1999**, *79*, 950.
- [118] A. Rompel, H. Fischer, D. Meiwes, K. Buldt-Karentzopoulos, R. Dillinger, F. Tuczec, H. Witzel, B. Krebs, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1999**, *4*, 56.
- [119] B. Krebs, M. Merkel, A. Rompel, *J. Argent. Chem. Soc.* **2004**, *92*, 1.
- [120] V. M. Virador, J. P. R. Grajeda, A. Blanco-Labra, E. Mendiola-Olaya, G. M. Smith, A. Moreno, J. R. Whitaker, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 3867.
- [121] C. Gasparetti, G. Faccio, M. Arvas, J. Buchert, M. Saloheimo, K. Kruus, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *86*, 213.
- [122] N. Hakulinen, C. Gasparetti, H. Kaljunen, K. Kruus, J. Rouvinen, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2013**, *18*, 917.
- [123] Y. Matoba, T. Kumagai, A. Yamamoto, H. Yoshitsu, M. Sugiyama, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 8981.
- [124] Y. C. Li, Y. Wang, H. B. Jiang, J. P. Deng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 17002.
- [125] M. Sendovski, M. Kanteev, V. S. Ben-Yosef, N. Adir, A. Fishman, *J. Mol. Biol.* **2011**, *405*, 227.
- [126] W. T. Ismaya, H. J. Rozeboom, A. Weijn, J. J. Mes, F. Fusetti, H. J. Wichers, B. W. Dijkstra, *Biochemistry* **2011**, *50*, 5477.
- [127] N. Fujieda, S. Yabuta, T. Ikeda, T. Oyama, N. Muraki, G. Kurisu, S. Itoh, *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 22128.
- [128] M. Kanteev, M. Goldfeder, A. Fishman, *Prot. Sci.* **2015**, *24*, 1360.
- [129] A. Bijelic, M. Pretzler, C. Molitor, F. Zekiri, A. Rompel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14677.
- [130] M. Goldfeder, M. Kanteev, S. Isaschar-Ovdat, N. Adir, A. Fishman, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4505.
- [131] E. Solem, F. Tuczec, H. Decker, *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 2934.
- [132] J. N. Hamann, B. Herzigkeit, R. Jurgeleit, F. Tuczec, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, in Druck.

- [133] R. Than, A. A. Feldmann, B. Krebs, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *182*, 211.
- [134] L. I. Simandi, T. M. Simandi, Z. May, G. Besenyei, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *245*, 85.
- [135] K. Selmeczi, M. Reglier, M. Giorgi, G. Speier, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *245*, 191.
- [136] C. Gerdemann, C. Eicken, B. Krebs, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 183.
- [137] S. K. Dey, A. Mukherjee, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *310*, 85.
- [138] E. Monzani, L. Quinti, A. Perotti, L. Casella, M. Gullotti, L. Randaccio, S. Geremia, G. Nardin, P. Faleschini, G. Tabbi, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 553.
- [139] S. J. Smith, C. J. Noble, R. C. Palmer, G. R. Hanson, G. Schenk, L. R. Gahan, M. J. Riley, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2008**, *13*, 499.
- [140] K. S. Banu, T. Chattopadhyay, A. Banerjee, S. Bhattacharya, E. Suresh, M. Nethaji, E. Zangrando, D. Das, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7083.
- [141] P. Chakraborty, J. Adhikary, B. Ghosh, R. Sanyal, S. K. Chattopadhyay, A. Bauza, A. Frontera, E. Zangrando, D. Das, *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 8257.
- [142] R. Wegner, M. Gottschaldt, H. Gorls, E.-G. Jager, D. Klemm, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2143.
- [143] A. Kupan, J. Kaizer, G. Speier, M. Giorgi, M. Reglier, F. Pollreisz, *J. Inorg. Biochem.* **2009**, *103*, 389.
- [144] B. Sreenivasulu, F. Zhao, S. Gao, J. J. Vittal, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, *2006*, 2656.
- [145] M. K. Panda, M. M. Shaikh, R. J. Butcher, P. Ghosh, *Inorg. Chim. Acta* **2011**, *372*, 145.
- [146] T. Csay, B. Kripli, M. Giorgi, J. Kaizer, G. Speier, *Inorg. Chem. Commun.* **2010**, *13*, 227.
- [147] M. A. Agotegaray, M. Dennehy, M. A. Boeris, M. A. Grela, R. A. Burrow, O. V. Quinzani, *Polyhedron* **2012**, *34*, 74.
- [148] Y. Thio, X. Yang, J. J. Vittal, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 3545.
- [149] C.-T. Yang, M. Vetrichelvan, X. Yang, B. Moubaraki, K. S. Murray, J. J. Vittal, *Dalton Trans.* **2004**, 113.
- [150] M. L. Perrone, E. Lo Presti, S. Dell'Acqua, E. Monzani, L. Santagostini, L. Casella, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, 3493.
- [151] M. Emirik, K. Karaoglu, K. Serbest, E. Mentese, I. Yilmaz, *J. Mol. Struct.* **2016**, *1106*, 331.

- [152] S. Mistri, A. Paul, A. Bhunia, R. K. Manne, M. K. Santra, H. Puschmann, S. C. Manna, *Polyhedron* **2016**, *104*, 63.
- [153] J. E. Bulkowski, *US Patent 4545937*, **1984**.
- [154] M. Réglie, C. Jorand, B. Waegell, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1752.
- [155] L. Casella, M. Gullotti, M. Bartosek, G. Pallanza, E. Laurenti, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, *18*, 1235.
- [156] L. Santagostini, M. Gullotti, E. Monzani, L. Casella, R. Dillinger, F. Tuczek, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 519.
- [157] L. Casella, E. Monzani, M. Gullotti, D. Cavagnino, G. Cerina, L. Santagostini, R. Ugo, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7516.
- [158] L. M. Mirica, M. Vance, D. J. Rudd, B. Hedman, K. O. Hodgson, E. I. Solomon, T. D. P. Stack, *Science* **2005**, *308*, 1890.
- [159] B. T. Op't Holt, M. A. Vance, L. M. Mirica, D. E. Heppner, T. D. P. Stack, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6421.
- [160] K. V. N. Esguerra, Y. Fall, J. P. Lumb, *Angew. Chem. Int. Ed* **2014**, *53*, 5877-5881; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 5987.
- [161] M. S. Askari, L. A. Rodriguez-Solano, A. Proppe, B. McAllister, J. P. Lumb, X. Ottenwaelder, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 12094.
- [162] B. R. Xu, J. P. Lumb, B. A. Arndtsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4208; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 4282.
- [163] K. V. N. Esguerra, Y. Fall, L. Petitjean, J. P. Lumb, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 7662.
- [164] M. S. Askari, K. V. N. Esguerra, J. P. Lumb, X. Ottenwaelder, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 8665.
- [165] Z. Huang, O. Kwon, K. V. N. Esguerra, J. P. Lumb, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 5871.
- [166] M. Rolff, J. Schottenheim, G. Peters, F. Tuczek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6438; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6583.
- [167] J. Schottenheim, N. Fateeva, W. Thimm, J. Krahmer, F. Tuczek, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2013**, *639*, 1491.
- [168] J. N. Hamann, F. Tuczek, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 2298.
- [169] J. N. Hamann, R. Schneider, F. Tuczek, *J. Coord. Chem.* **2015**, *68*, 3259.

- [170] J. Schottenheim, C. Gernert, B. Herzigkeit, J. Kramer, F. Tuczek, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, 21, 3501.
- [171] A. Hoffmann, C. Citek, S. Binder, A. Goos, M. Rübhausen, O. Troeppner, I. Ivanovic-Burmazovic, E. C. Wasinger, T. D. P. Stack, S. Herres-Pawlis, *Angew. Chem.* **2013**, 125, 5508; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 5398.
- [172] C. Wilfer, P. Liebhäuser, H. Erdmann, A. Hoffmann, S. Herres-Pawlis, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, 3, 494.
- [173] N. Braussaud, T. Rütter, K. J. Cavell, B. W. Skelton, A. H. White, *Synthesis* **2001**, 4, 626.
- [174] J. Schottenheim, *Dissertation*, CAU zu Kiel **2014**.
- [175] M. Peer, J. C. de Jong, M. Kiefer, T. Langer, H. Rieck, H. Schell, P. Sennhenn, J. Sprinz, H. Steinhagen, B. Wiese, G. Helmchen, *Tetrahedron* **1996**, 52, 7547.
- [176] K. Schwekendiek, F. Glorius, *Synthesis* **2006**, 18, 2996.
- [177] J. T. Kovalainen, J. A. M. Christiaans, S. Kotisaari, J. T. Laitinen, P. T Männistö, L Tuomisto, J. Gynther, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1193.
- [178] R. Appel, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1975**, 14, 801.
- [179] H. Vorbrüggen, K. Krolikiewicz, *Tetrahedron* **1993**, 49, 9353.
- [180] O. N. Gorunova, K. J. Keuseman, B. M. Goebel, N. A. Kataeva, A. V. Churakov, L. G. Kuz'mina, V. V. Dunina, I. P. Smoliakova, *J. Organomet. Chem.* **2004**, 689, 2382.
- [181] H. Witte, W. Seeliger, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 996.
- [182] R. A. Aitken, D. P. Armstrong, R. H. B. Galt, S. T. E. Mesher, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 935.
- [183] I. Meyers, D. L. Temple, I D. Haidukewych, E. D. Mihelich, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 2787.
- [184] F. Wendt, C. Näther, F. Tuczek, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2016**, 21, 777.
- [185] C. Fahrni, A. Pfaltz, *Helv. Chim. Acta* **1998**, 81, 491.
- [186] R. Allmann, E. U. Wurthwein, *Chem. Ber.* **1985**, 188, 3089.
- [187] M. Neck, *Bachelorarbeit*, CAU zu Kiel **2014**.
- [188] K. Kamata, I. Agata, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3113.
- [189] T. Hanazawa, S. Nagayama, K. Nakao, H. Tanaka, *US20110152326 A1*, **2011**.

- [190] C. Liao, X. Zhu, X. G. Sun, S. Dai, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 5308.
- [191] T. Laue, A. Plages, *Namen- und Schlagwort-Reaktionen der Organischen Chemie*, 4 Ed., B. G. Teubner Verlag, Wiesbaden, **2004**.
- [192] R. T. Renato, D. Bogucki, G. J. Bridger, *Synlett* **2000**, 10, 1488.
- [193] D. Q. Nquyen, H. W. Bae, E. H. Jeon, J. S. Lee, M. Cheong, H. Kim, H. S. Kim, H. Lee, *J. Power Sources* **2008**, 183, 303.
- [194] M. Orfanopoulos, I. Smonou, C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 3607.
- [195] T. Duden, Bachelorarbeit, CAU zu Kiel **2014**.
- [196] J. M. McCall, R. C. Robert, D. L. Romero, *PCT Int. Appl.* **2012**, WO 2012149157 A2 20121101.
- [197] B. Striegel, *Dissertation*, Universität Regensburg **2006**.
- [198] F. Toda, S. Soda, I. Goldberg, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 2357.
- [199] P. B. S. Dawadi, J. Lugtenburg, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2288.
- [200] A. Buschauer, W. Schunack, *Arch. Pharm.* **1983**, 316, 891.
- [201] T. N. Sorrell, M. L. Carrity, *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 210.
- [202] A. J. Cantry, N. J. Minchin, *Aust. J. Chem.* **1986**, 39, 1063.
- [203] N. Mehrkens, *Diplomarbeit*, CAU zu Kiel **2011**.
- [204] T. Wendler, *Dissertation*, CAU zu Kiel **2013**.
- [205] P. W. Garibay, *US-Patent 2011/0166321 A1* **2011**, 62.
- [206] Huang-Minlon, *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 2487.
- [207] J. Mukherjee, R. Mukherjee, *Inorg. Chim. Acta* **2002**, 337, 429.
- [208] J. Rall, M. Wanner, M. Albrecht, F. M. Hornung, W. Kaim, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 2802.
- [209] L. Horner, E. Geyer, *Chem. Ber.* **1965**, 98, 2016.
- [210] S. Harmaker, S. E. Jones, D. T. Sawyer, *Inorg. Chem.* **1983**, 22, 2790.
- [211] M. D. Stallings, M. M. Morrison, D. T. Sawyer, *Inorg. Chem.* **1981**, 20, 2655.
- [212] A. Nevesa, L. M. Rossi, A. J. Bortoluzzi, B. Szpoganicz, C. Wiezbicki, E. Schwingel E, *Inorg. Chem.* **2002**, 41, 1788.

- [213] O. Sénèque, M. Champion, B. Douziech, M. Giorgi, E. Rivière, Y. Journaux, Y. Le Mest, O. Reinaud, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2002**, 8, 2007.
- [214] P. Gentschev, N. Müller, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta* **2000**, 300, 422.
- [215] F. Zippel, F. Ahlers, R. Werner, W. Haase, H. F. Nolting, B. Krebs, *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 3409.
- [216] R. Wegner, M. Gottschaldt, H. Görls, E. G. Jäger, D. Klemm, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 608.
- [217] C. H. Kao, H. H. Wie, Y. H. Liu, G. H. Lee, Y. Wang, C. J. Lee, *J. Inorg. Biochem.* **2001**, 84, 171.
- [218] J. Ackermann, F. Meyer, E. Kaifer, H. Pritzkow, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 247.
- [219] J. Manzur, A. M. Garcia, V. Rivas, A. M. Atria, J. Valenzuela, E. Spodine, *Polyhedron* **1997**, 16, 2299.
- [220] S. V. Jovanovic, K. Kónya, J. C. Scaiano, *Can. J. Chem.* **1995**, 73, 1803.
- [221] P. Chelikani, I. Fita, P. C. Loewen, *Mol. Life. Sci.* **2004**, 61, 192.
- [222] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, 5 Ed., New York: W H Freeman; **2002**, Section 8.4.
- [223] G. Speier, *J. Mol. Catal.* **1986**, 37, 259.
- [224] J. Balla, T. Kiss, R. F. Jameson, *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 58.
- [225] B. Flöser, *Aktuelle Arbeiten*, CAU zu Kiel **2016**.
- [226] F. Neese, *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2012**, 2, 73.
- [227] J. M. Tao, J. P. Perdew, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, 91, 146401.
- [228] F. Weigend, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, 8, 1057.
- [229] K. Eichkorn, H. Treutler, H. Öhm, M. Häser, R. Ahlrichs, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, 240, 283.
- [230] K. Eichkorn, F. Weigend, O. Treutler, R. Ahlrichs, *Theor. Chem. Acc.* **1997**, 97, 119.
- [231] F. Neese, *J. Comput. Chem.* **2003**, 24, 1740.
- [232] E. van Lenthe, E. J. Baerends, J. G. J. Snijders, *Chem. Phys.* **1993**, 99, 4597.
- [233] D. A. Pantazis, X. Y. Chen, C. R. Landis, F. Neese, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, 4, 908.

- [234] J. E. Bulkowski, *US patent 4545937*, **1985**.
- [235] K. Kushioka, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 4456.
- [236] A. Arnold, R. Metzinger, C. Limberg, *Chem. Eur. J.* **2014**, *21*, 1198.
- [237] J. I. van der Vlugt, F. Meyer, *Homogeneous Copper-Catalyzed Oxidations*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2007**, *22*, 191.
- [238] N. Shaikh, A. Panja, P. Banerjee, M. Ali, *Transition Met. Chem.* **2003**, *28*, 871.
- [239] P. Verma, J. Weir, L. Mirica, T. D. P. Stack, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 9816.
- [240] G. M. Badger, I. S. Walker, *J. Chem. Soc.* **1956**, 122.
- [241] J. H. Zhu, J. A. Olmstead, D. G. Gray, *J. Wood Chem. Tech.* **1995**, *15*, 43.
- [242] M. J. Nilges, H. M. Swartz, P. A. Riley, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 2446.
- [243] S. W. Taylor, T. F. Molinski, L. M. Rzepecki, J. H. Waite, *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 918.
- [244] C. Wilfer, P. Liebhäuser, A. Hoffmann, H. Erdmann, O. Grossmann, L. Runtsch, E. Paffenholz, R. Schepper, R. Dick, M. Bauer, M. Dürr, I. Ivanovic-Burmazovic I, S. Herres-Pawlis S, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 17639.
- [245] H.-J. Teuber, S. Benz, *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 2077.
- [246] G. J. Palenik, *Acta Cryst.* **1964**, *17*, 687.
- [247] A. Walli, S. Dechert, M. Bauer, S. Demeshko, F. Meyer, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, *2014*, 4660.
- [248] J. Li, D. W. Widlicka, K. Fichter, D. P. Reed, G. R. Weisman, E. H. Wong, A. DiPasquale, K. J. Heroux, J. A. Golen, A. L. Reinhold, *Inorg. Chim. Acta* **2010**, *364*, 185.
- [249] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S.

Dapprich, A. D. Daniels, . Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision C.01*, Gaussian Inc. Wallingford CT **2009**.

- [250] A. J. H. Wachters, *J. Chem. Phys.* **1970**, *52*, 1033.
- [251] P. J. Hay, *J. Chem. Phys.* **1977**, *66*, 4377.
- [252] K. Raghavachari and G. W. Trucks, *Chem. Phys.* **1989**, *91*, 1062.
- [253] P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 270.
- [254] P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 299.
- [255] N. Stucke, *Aktuelle Arbeiten CAU zu Kiel* **2016**.
- [256] TURBOMOLE V6.6 2014, eine Entwicklung der University Karlsruhe und dem Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, 1989-2007, TURBOMOLE GmbH, seit 2007; erhältlich auf <http://www.turbomole.com>.
- [257] S. Grimme, J. Anthony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Phys. Chem* **2010**, *132*, 154104.
- [258] H. W. G. van Herwijnen, U. H. Brinker, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2874.

Publikationen und Konferenzbeiträge

Publikationen

- F. Wendt, M. Rolff, W. Thimm, C. Näther, F. Tuczek,
"A Small-molecule Model System of Galactose Oxidase: Geometry, Reactivity and Electronic Structure"
Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie **2013**, 639, 2502-2509.
- F. Wendt, C. Näther, F. Tuczek,
"Tyrosinase and Catechol Oxidase Activity of Copper(I) Complexes Supported by Imidazole-Based Ligands: Structure-Reactivity Correlations"
Journal of Biological Inorganic Chemistry **2016**, 21, 777-792.

Konferenzbeiträge

- EU-COST CM1003-WG2 Meeting Göttingen, 19. - 21.03.2012
Posterbeitrag: "Multidentate N-Donorligands with Appended Phenol and its Corresponding Copper Complexes"
- EU-COST CM1003-WG2 Meeting Mainz, 28. - 29.05.2013
Posterbeitrag: "Spectroscopic investigations of catalytic tyrosinase model systems based on pyrazole and imidazole ligands"
- Norddeutsches Doktoranden Kolloquium Rostock, 11. - 12.09.2014
Posterbeitrag: „Biomimetische Chelatliganden zur Modellierung kupferkatalysierter Reaktionen“

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Franziska Wendt, an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft erstellt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe des Literaturzitats gekennzeichnet. Ich habe keine vorherigen Promotionsversuche unternommen und diese Arbeit hat an keiner anderen Stelle im Rahmen eines Promotionsverfahrens vorgelegen. Zum Zeitpunkt der Abgabe wurden Teile dieser Dissertation in Form von Tagungsbeiträgen vorgestellt bzw. zur Veröffentlichung eingereicht.

Ort, Datum

Dipl.-Chem. Franziska Wendt

Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Felix Tuczek für das herausfordernde Thema, die Zeit und die hilfreichen Ratschläge, die Sie mir erteilt haben sowie die Möglichkeiten meine Ideen umzusetzen. Ich habe immer mit sehr viel Freude geforscht!

Prof. Dr. Christian Näther danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtes und für die Verfeinerung der Einkristallstrukturdaten, dessen zeitlichen Aufwand und Mühen ich sehr zu schätzen weiß.

Für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren bedanke ich mich bei Herrn Dr. Jan Kraher sowie Frau Marion Höftmann und Herrn Prof. Dr. Frank D. Sönnichsen aus dem Institut für Organische Chemie.

Ein weiteres Dankeschön geht an Frau Ursula Cornelissen, Frau Stephanie Pehlke und Frau Jaqueline Pick der spektroskopischen Abteilung für unzählige Messungen. Weiterhin möchte ich mich bei Frau Inke Jess für die Einkristallmessungen und Frau Monika Schneeweis für die AAS-Messungen bedanken. Michael Wendt danke ich für die Messungen der Pulverdiffraktogramme.

Für eine schöne Zeit während meiner Doktorarbeit möchte ich vor allem meinen Laborpartnern/rinnen Julia Schottenheim, Jessica Hamann, Benjamin Herzigkeit und Ramona Jurgeleit danken. Danke für die vielen wissenschaftlichen Diskussionen, aber auch für die privaten Unterhaltungen. Passt gut auf „Eddi“ auf!

Ein großes Dankeschön gilt Nadja Stucke für die Durchführung vieler DTF-Rechnungen, die etwas Licht ins Dunkel gebracht haben! Benedikt Flöser danke ich für die DTF-Rechnung mit ORCA. Weiterhin danke ich Wulff Thimm, der mich bei meinen ersten Gehversuchen bei den DFT-Rechnungen unterstützt hat.

Vielen Dank natürlich auch an den Rest des Arbeitskreises für die schönen Jahre!

Meinen Bachelorstudenten und Praktikanten Jonas Scholz, Melanie Neck, Torben Duden, Benjamin Herzigkeit, Ramona Jurgeleit, Irene Lautenschläger danke ich für eine sehr lustige und gute Zusammenarbeit.

Für das Korrekturlesen, die Anmerkungen und die Zeit, die sie für mich geopfert haben danke ich Benjamin Herzigkeit, Ramona Jurgeleit, Bettina Schwager, Andrea Wendt und Michael Wendt.

Durch die intensive Zeit im Studium und der Doktorarbeit sind sehr gute Freundschaften entstanden, so dass ich mich ganz besonders bei Bettina Schwager, Hanne Jacob, Jan Schürmann, Christian Hennings, Ann-Christin Schnoor, Julie Werner, Finn Petersen, Christian Müller, Jan Strüben, Tim Stöven und Sören Gutekunst bedanken möchte. Danke für eine aufregende und verrückte Studien- sowie Doktorandenzeit! Ich würde sie für nichts in der Welt eintauschen wollen. Vielen Dank auch Ann-Kathrin Grunzig und Ellen Klauser für das große Verständnis, dass ich immer so wenig Zeit für euch hatte.

Ein besonders herzliches Dankeschön gilt jedoch meiner Familie. Oma Lore danke ich für die ganzen Jahre der Unterstützung und die vielen lieben Worte. Vielen Dank an Oma Rita und Opa Hans für eure stetige Anteilnahme. Meinen Eltern Andrea und Ralf sowie meiner lieben Schwester Anja gebührt ein ganz besonderes Dankeschön. Auch wenn es kaum in Worte zu fassen ist, was ihr für mich geleistet habt, danke ich euch, dass ihr so ein hohes Maß an Geduld bewiesen habt, für die Motivation und den Zuspruch über all die vielen Jahre! Danke, dass ihr so sehr an mich geglaubt habt! Ohne Euch wäre ich nicht der Mensch der ich heute bin.

Meinem lieben Ehemann Michael Wendt danke ich aus vollem Herzen für den bedingungslosen Rückhalt, den ich von dir erhalten habe! Du hast mich so oft aufgefangen und mir so viele wunderschöne unvergessliche Momente geschenkt.