

## 5.1 Zusammenfassung

### Modelle für die Sulfidoxigenase-Aktivität vanadatabhängiger Haloperoxidasen

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Modellierung des aktiven Zentrums vanadatabhängiger Haloperoxidasen. Derartige Peroxidasen kommen hauptsächlich in marinen Algen vor, wurden aber auch in einem niederen Pilz und in einer Flechte gefunden. Allen ist gemeinsam, dass Vanadat(V) im aktiven Zentrum kovalent an ein Histidin gebunden ist, wobei Vanadium trigonal-bipyramidal koordiniert ist. Neben der originären Funktion dieser Enzyme, der Oxidation von Halogenid mittels Peroxid zu Unterhalogeniger Säure, wurde auch eine Sulfidoxigenase-Aktivität beobachtet, wobei bei der Verwendung prochiraler Sulfide als Substrate die Bildung der Sulfoxide meist enantioselektiv erfolgt. Die in der Arbeit dargestellten Modellkomplexe werden in Hinblick auf ihre Eignung als Katalysatoren in der Sulfidoxidation mit chiraler Induktion untersucht.

Als geeignete Modelle wurden zwei unterschiedliche Systeme ausgewählt: Das erste System umfasst Vanadiumkomplexe mit bi- und trichiralen Amino-*bis*(ethanolaten), die über einen ONO-Ligandensatz verfügen und mithin die Koordinationssphäre des Vanadiums in den Enzymen ( $O_4N$ ) dann zu modellieren vermögen, wenn zusätzlich zwei Sauerstofffunktionen, z.B. in Form der doppelt gebundenen Oxogruppe und eines Alkoxoliganden eingebracht werden. Das zweite System betrifft Vanadiumkomplexe mit Schiffbaseliganden aus Salicylaldehyden und Phenylethylamin oder Aminosäuren. Solche Liganden verfügen über eine Iminfunktion, mit der die Koordination des Histidins in den Enzymen modelliert wird.

Die chiralen Aminoalkohole  $H_2L$ , **1-4**, wurden durch Ringöffnungsreaktion aus Epoxiden und Aminen dargestellt, wie dies in der Abb. S1 gezeigt ist.

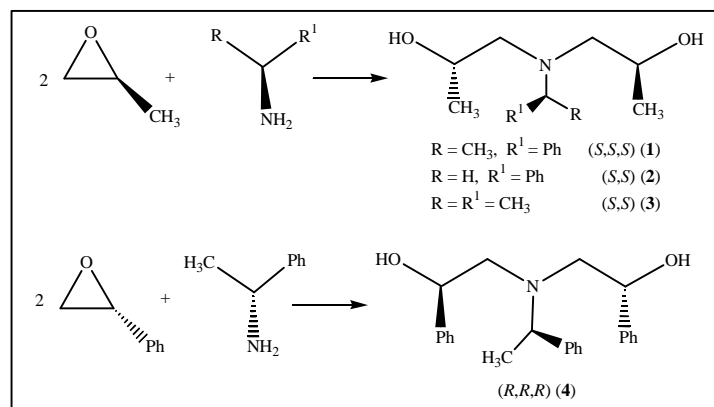


Abb. S1: Synthese enantioreiner Aminoalkohole.

Die Umsetzung von  $H_2L$  mit Oxovanadium-*tris*(isopropylat),  $VO(OiPr)_3$ , im Methanol führte zu Komplexen der Zusammensetzung  $[VO(OMe)L]$  (**8a**, **9**, **10**, **11a**), von denen **8a**, **9** und **11a** mittels Röntgendiffraktometrie charakterisiert werden konnten; vergl. Abb. S2. Bei Umsetzung von  $Na_2L$  mit  $VOCl_2$  werden die Chlorokomplexe  $[VOCl(L)]$  (**8b**, **11b**) erhalten. Die Komplexe zeigen die für Vanadiumkomplexe der Koordinationszahl 5 seltene trigonal-bipyramidale Koordinationsgeometrie mit der Methoxogruppe und dem Amin-N in den axialen Positionen. Die Verzerrungen in Richtung auf eine tetragonale Pyramide liegen bei  $\tau$ -Werten von 0.75 bis 0.65.

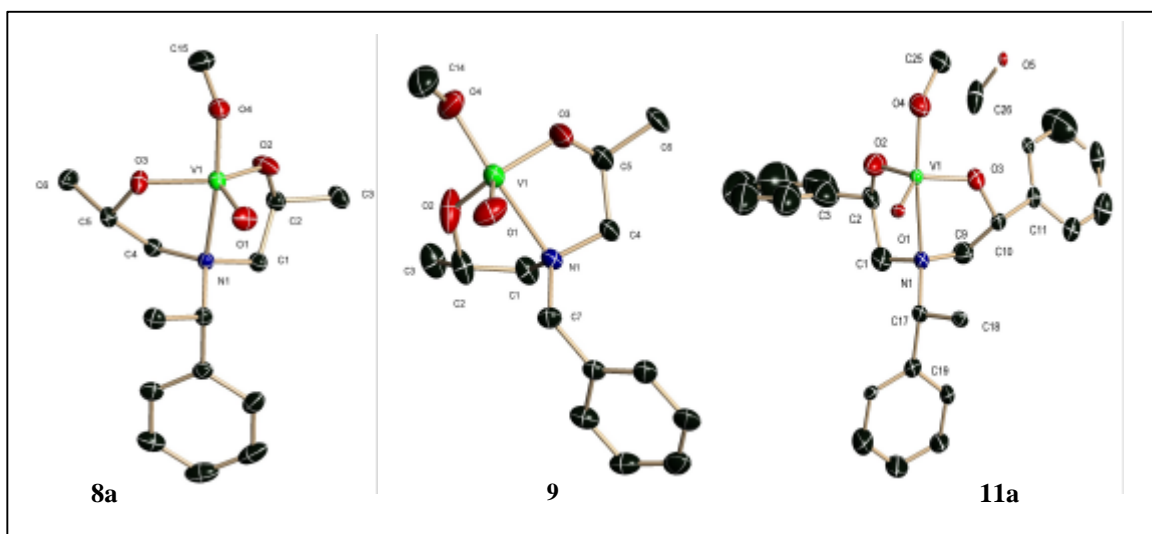


Abb. S2: Molekülstrukturen von **8a**, **9** und **11a**  $1/2CH_3OH$ .

Detaillierte  $^1H$  und insbesondere  $^{51}V$ -NMR Untersuchungen der Lösungen dieser Komplexe zeigen, dass in Lösung komplexe Gleichgewichte vorliegen, an denen einerseits Monomere und Dimere (oder Oligomere) beteiligt sind, andererseits Isomere, die sich aus unterschiedlichen Ligandenanordnungen in der trigonalen Bipyramide ergeben (Abb. S3). Im Falle der Verbindung **8a** z.B. werden die Austauschverhältnisse, an denen vier der insgesamt fünf in Lösung vorliegenden Spezies beteiligt sind, durch das 2D-EXSY  $^{51}V$  NMR Spektrum der Abb. S4 beschrieben.

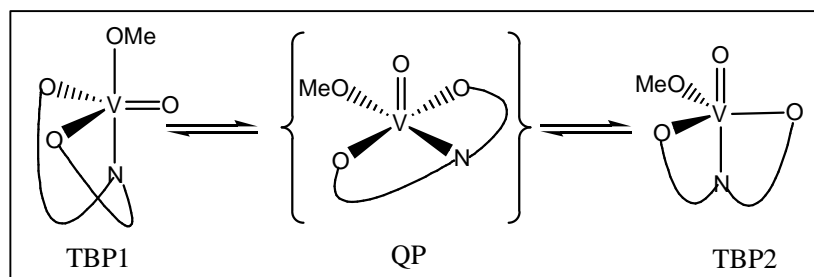


Abb. S3

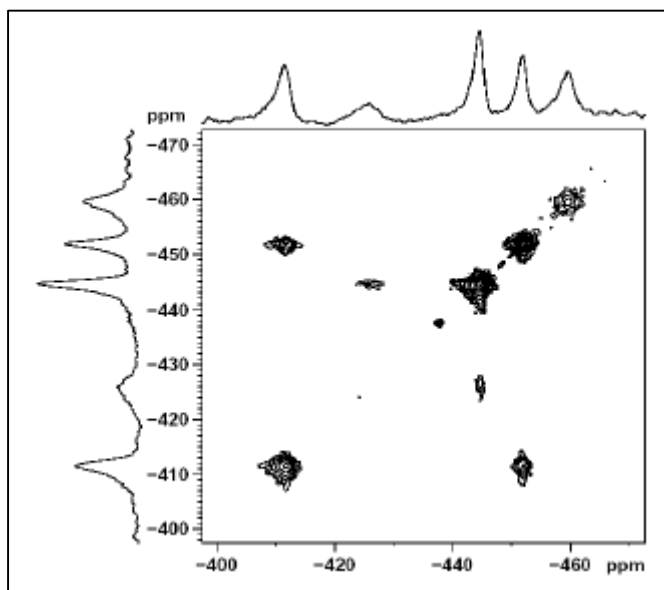


Abb. S4: 2D-EXSY  $^{51}\text{V}$  NMR Spektrum von **8a** in  $\text{CDCl}_3$ .

Schiffsche Basen  $\text{HL}'$  aus Salicylaldehyden (sal) und Phenylethylamin reagieren mit  $\text{VO}(\text{acac})_2$  (acac = Acetylacetonat(1-)) zu den verzerrt trigonal-bipyramidalen  $\text{V}^{\text{IV}}$  Komplexen  $[\text{VO}(\text{L}')_2]$  **12** und **13** (sal = 5-Chloro-salicylaldehyd bzw. 2-Hydroxy-naphthaldehyd(1)), bzw. mit  $\text{VOCl}_2$  zum verzerrt tetragonal-pyramidalen Komplex **14** (sal = Salicylaldehyd). Die  $\tau$ -Parameter liegen bei 0.66 (**12** und **13**) bzw. 0.44 (**14**). **12**, **13**, **14** und der Ligand **6** (sal = 5-Chloro-salicylaldehyd) konnten strukturell charakterisiert werden; vergl. Abb. S5 und S6.

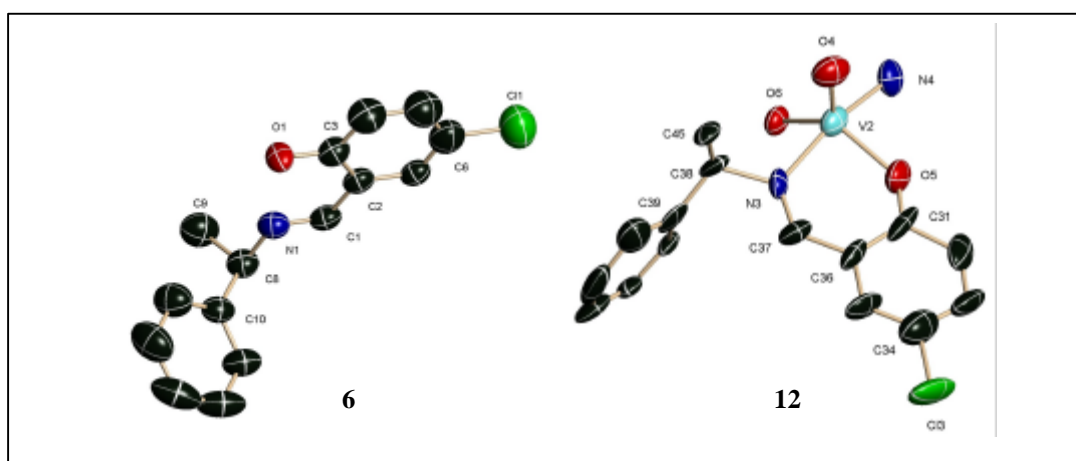


Fig. S5: Vergleich zwischen den Molekülstrukturen von Ligand **6** und Komplex **12**.

Die Komplexe zeigen im EPR Eigenschaften, die denen der reduzierten Peroxidasen sehr ähnlich sind. So nehmen die für die Bindungsmodi und elektronischen Eigenschaften besonders aussagekräftigen parallelen Komponenten der Hyperfeinkopplungskonstanten

A<sub>1</sub> im anisotropen Spektrum Werte zwischen  $161$  und  $165 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ , in der reduzierten Peroxidase aus *A. nodosum* in Abhängigkeit vom pH Werte von  $160$ - $167 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  an.

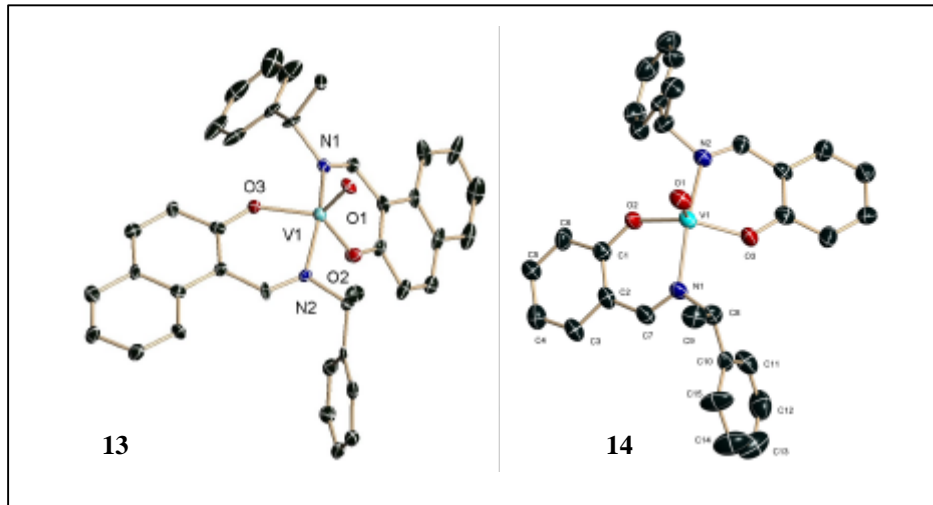


Abb. S6: Molekülstrukturen von 13 (links) und 14 (rechts).

Werden als Aldehydkomponente *o*-Vanillin und als Aminkomponente Tyrosin oder Tryptophan eingesetzt, so erhält man mit den daraus resultieren Schiffbasen Komplexe der Zusammensetzung  $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})\text{L}']$ .

Die Komplexe **8a**, **9**, **10**, **11a** und das *in situ* System  $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3/\text{L4}$  wurden als Katalysatoren in der Oxidation prochiraler Sulfide (Methyl-*p*-Tolylsulfid, MeSpTol; Benzylphenylsulfid, BzSPh) mit Cumylhydroperoxid (CHP) oder *t*-Butylhydroperoxid (TBHP) eingesetzt und das Produktspektrum hinsichtlich Zeitablauf und Verteilung auf die Oxidationsprodukte Sulfoxid (SO) und Sulfon ( $\text{SO}_2$ ) sowie den Enantiomerenüberschuss (e.e.) hin untersucht. Ein typisches Beispiel zeigt die Abb. S7.

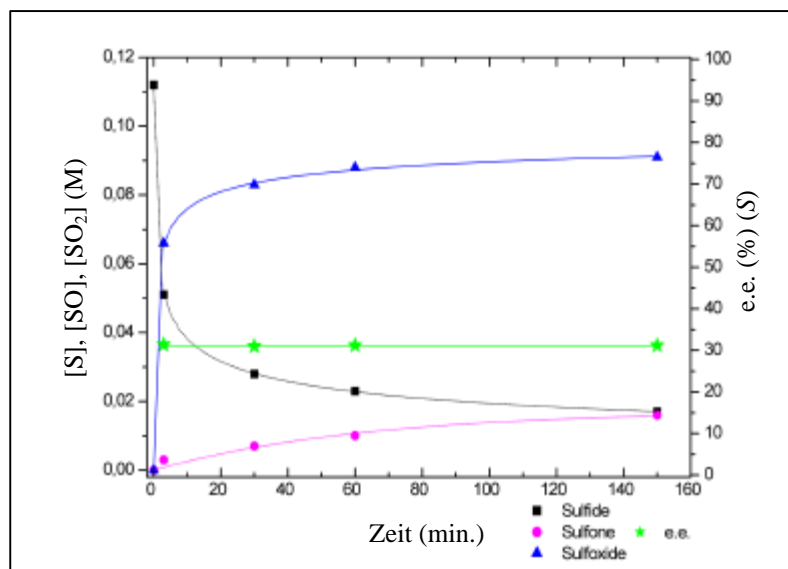


Abb. S7: Reaktionsverlauf für die Oxidation von MeSpTol mit CHP.

Alle eingesetzten Komplexe wirken als enantioselektive Katalysatoren, wenn auch in Abhängigkeit vom Komplex, vom Substrat und vom Oxidationsmittel mit unterschiedlichen e.e. Besonders hohe Umsätze (von 100%) und brauchbare e.e. (von bis zu 31%) ergeben sich mit dem Katalysator **8a** (vergl. Abb. S2 links) bei Verwendung von MeSpTol (mit sehr unterschiedlichen Resten R am Schwefel) und des sterisch weniger belasteten CHP. Wie  $^{51}\text{V}$  NMR-Untersuchungen von Lösungen des Komplexes **11a** (Abb. S2 rechts) bzw. des Systems  $\text{VO}(\text{OiPr})_3/\mathbf{L4}$  in  $\text{CDCl}_3$  in Gegenwart von TBHP zeigen, ist ein Peroxokomplex des Vanadiums, wahrscheinlich der Zusammensetzung  $[\text{VO}(\text{OOR})\text{L}]$  die aktive Spezies. Der auf dieser Basis vorgeschlagene Mechanismus der Sulfidoxigenierung ist in Abb. S8 dargestellt.

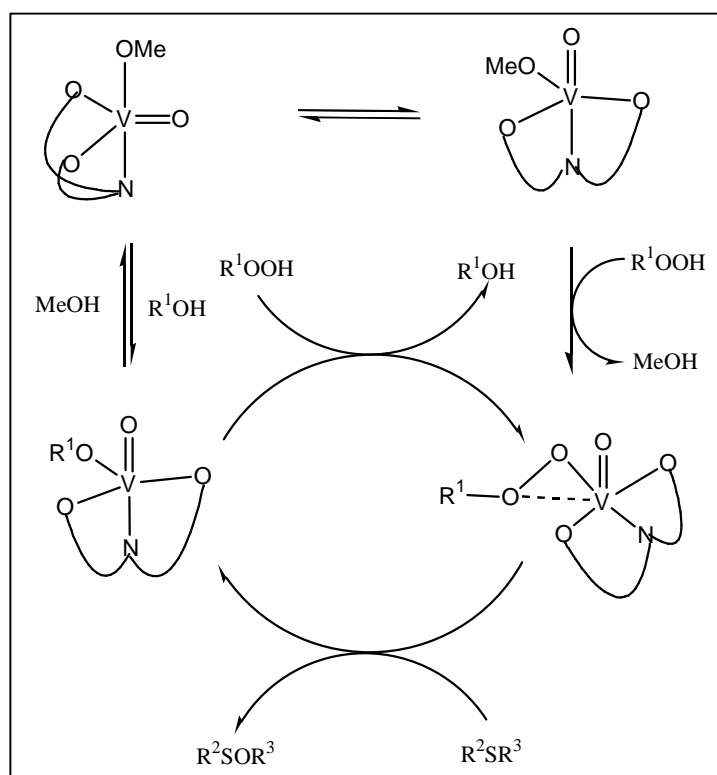


Abb. S8: Vorgeschlagene Mechanismus der Sulfidoxigenierung.

## 5.2 Summary

### Models for the sulfideoxygenase activity of vanadate-dependent haloperoxidases

The objective of the present work is to model the active centre of vanadate-dependent peroxidases. These peroxidases mainly occur in marine algae, but have also been found in a primitive fungus and in a lichen. A common feature is the active centre vanadate, covalently bound to a histidine, with vanadium in a trigonal-bipyramidal environment. Apart of the original function of these enzymes, the oxidation of halides to hypohalous acids by peroxide, a sulfideoxygenase activity has also been noted. In case of prochiral sulfides as substrates, the formation of the sulfoxides in most cases is enantio-selective. The model compounds synthesised in this work are investigated with respect to their potential as catalysts in sulfide oxidation with chiral induction.

Two different systems have been chosen as suitable models: the first of these systems comprises vanadium complexes with bi and trichiral amino-bis(alcoholates), which have available an ONO-donor set and thus can model the coordination sphere of vanadium in the enzymes ( $O_4N$ ) if two additional oxygen functions are provided, such as the doubly bonded oxo group along with an alkoxo ligand. The second system encompassed vanadium complexes with Schiff base ligands based on salicylaldehydes and phenylethylamine or amino acids. These ligands contain an imine function and thus model the coordination of histidin in the enzymes.

The chiral aminoalcohols  $H_2L$ , **1-4**, were prepared by ring-opening reactions from epoxides and amines as shown in Fig. S1.

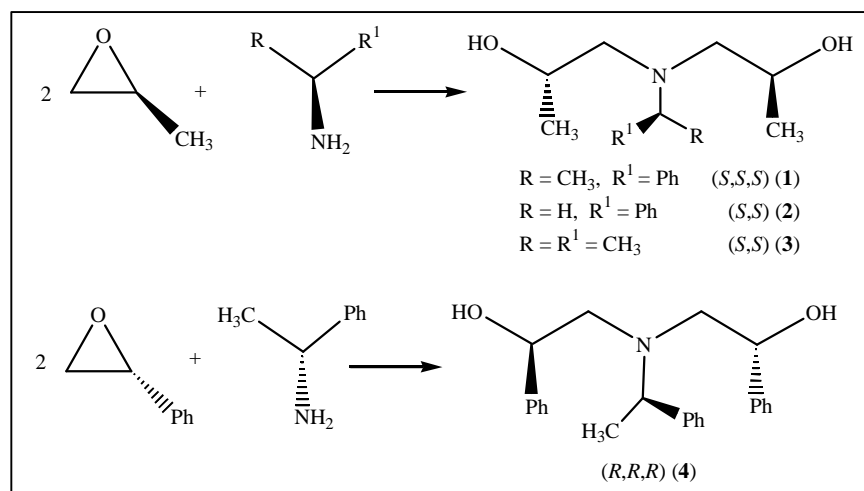


Fig. S1: Synthesis of enantiopure aminoalcohols.

The reaction of  $H_2L$  with oxovanadium-tris(isopropylate),  $VO(OiPr)_3$  in methanol yields the complexes  $[VO(OMe)L]$  (**8a**, **9**, **10**, **11a**), **8a**, **9** and **11a** have been characterised by X-ray diffraction; cf. Fig. S2. If  $Na_2L$  is reacted with  $VOCl_2$ , the chloro complexes  $[VOCl(L)]$  (**8b**, **11b**) are generated. The compounds exhibit the trigonal-bipyramidal coordination geometry, which is rare in vanadium complexes of coordination number 5. The methoxy ligand and the amin-N occupy the axial positions. Distortions towards the square pyramid are quantified by  $\tau$  values between 0.75 and 0.65.

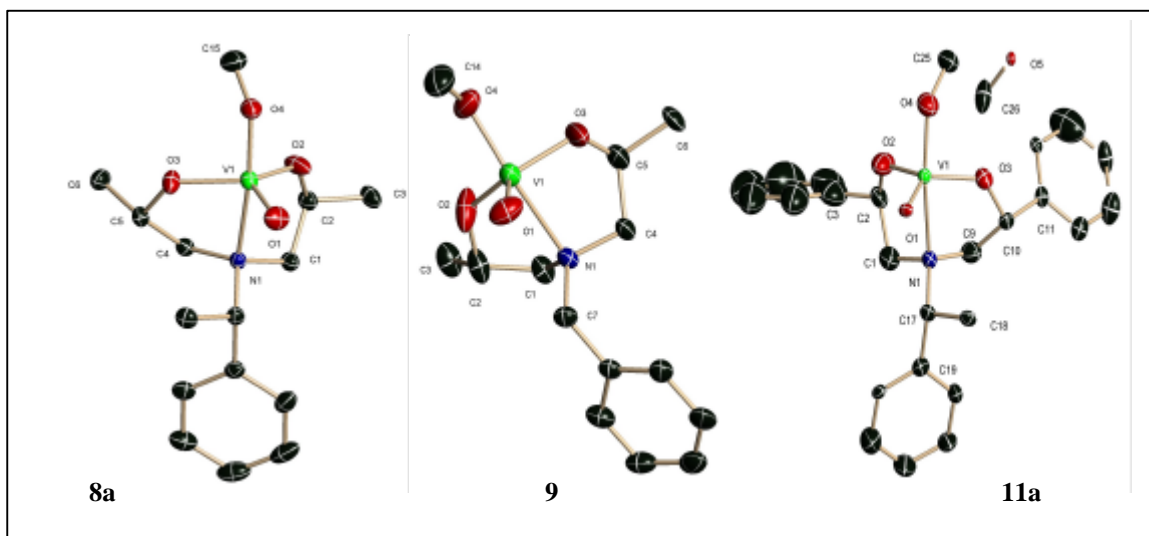


Fig. S2: Crystal structures of **8a**, **9** and **11a** $\cdot$  $1/2CH_3OH$ .

Detailed  $^1H$  and, in particular,  $^{51}V$  NMR investigations of solutions of the complexes reveal complex equilibria, with the participation of (i) monomers and dimers (or oligomers) and (ii) isomers resulting from differing arrangements of the ligand system in the trigonal bipyramid (Fig. S3). In the case of compound **8a**, e.g., the equilibrium situation for four of the overall five species present in solution is appropriately described by the 2D-EXSY  $^{51}V$  NMR spectrum shown in Fig. S4.

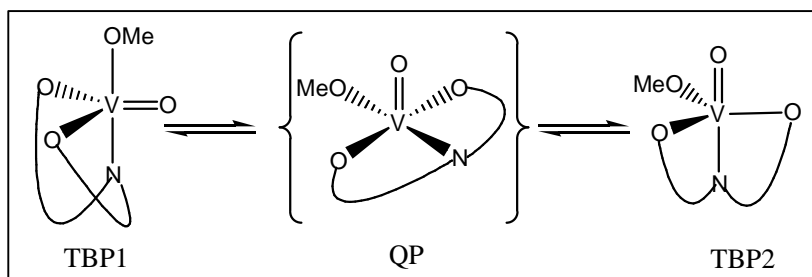


Fig. S3

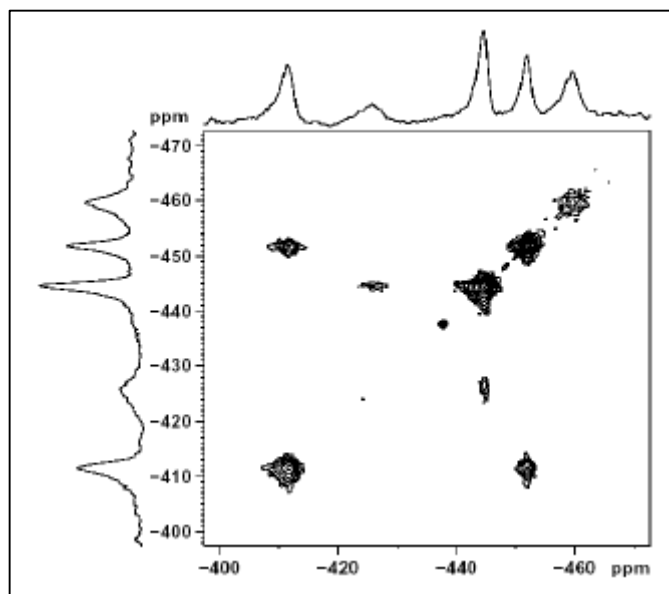


Fig. S4: 2D-EXSY  $^{51}\text{V}$  NMR Spectrum of **8a** in  $\text{CDCl}_3$ .

Schiff bases  $\text{HL}'$  formed from salicylaldehydes (sal) and phenylethylamine react with  $\text{VO}(\text{acac})_2$  (acac = acetylacetonate(1-)) to form distorted trigonal bipyramidal  $\text{V}^{\text{IV}}$  complexes  $[\text{VO}(\text{L}')_2]$  **12** and **13** (sal = 5-chloro-salicylaldehyde and 2-hydroxynaphthaldehyde(1)), and with  $\text{VOCl}_2$  to yield the distorted square-pyramidal complex **14** (sal = salicylaldehyde). The  $\tau$  parameters amount to 0.66 (**12** and **13**) and 0.44 (**14**). **12**, **13** and **14**, and the ligand **6** (sal = 5-chloro-salicylaldehyde) have been structurally characterised, see Figs. S5 and S6.

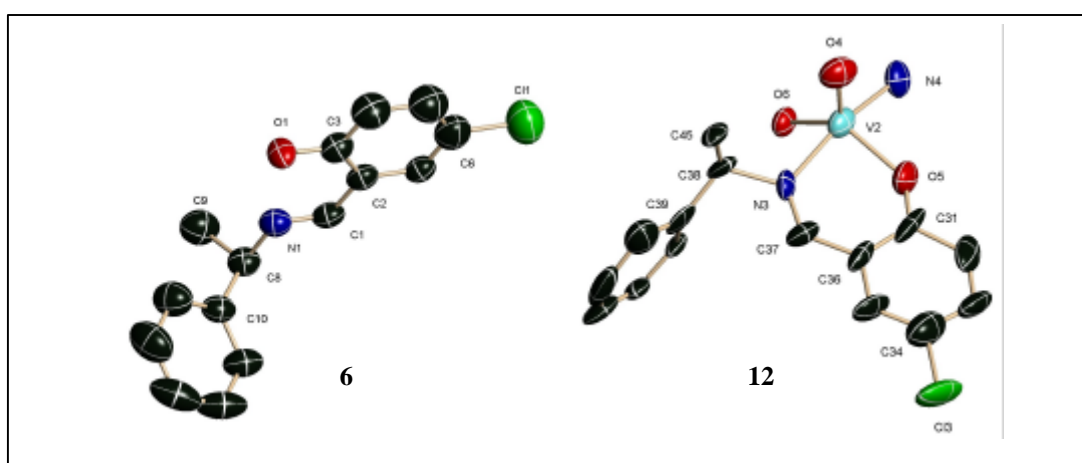


Fig. S5: Comparison between the crystal structures of ligand **6** and complex **12**.

The complexes exhibit EPR properties reminiscent to those of the reduced peroxidases. Thus, the parallel component of the anisotropic hyperfine coupling constant  $A_{\parallel}$ , which is particularly diagnostic for the binding functions and electronic properties, is  $161\text{-}165 \cdot 10^{-4}$



$\text{cm}^{-1}$  in the model complexes, and  $160\text{-}167 \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1}$  in the reduced *A. nodosum* peroxidase, depending on pH.

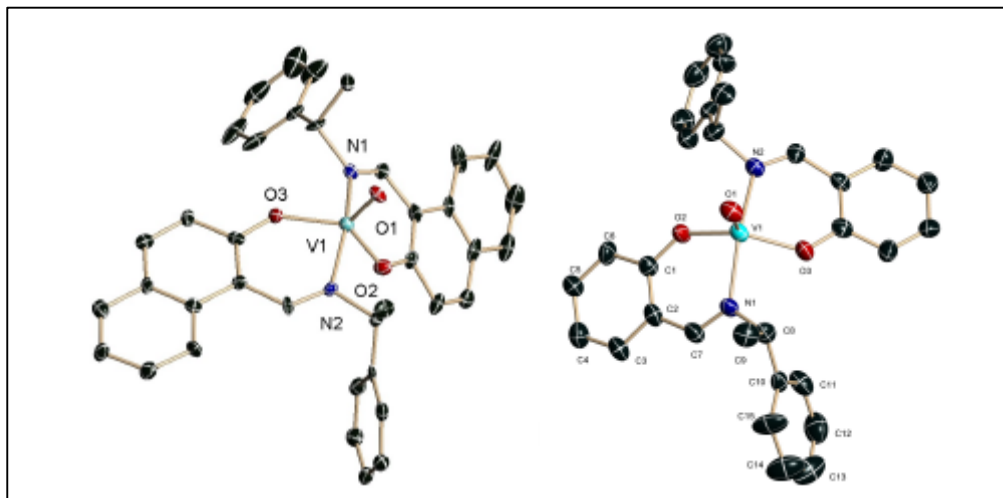


Fig. S6: Crystal structures of 13 and 14.

If *o*-vanillin is employed as the aldehyde component and the amino acids tyrosine or tryptophane as the amine constituent, the resulting Schiff base complexes have composition  $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})\text{L}']$ .

The complexes **8a**, **9**, **10**, **11a** and the *in situ* system  $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3/\mathbf{L4}$  were used as catalysts in the oxidation of prochiral sulfides (methyl-*p*-tolylsulfide, MeSpTol; benzylphenylsulfide, BzSPh) by cumylhydroperoxide (CHP) or *t*-butylhydroperoxide (TBHP), and the product spectrum evaluated with respect to the reaction time, the product distribution (among sulfoxide SO and sulfone  $\text{SO}_2$ ) and the enantiomeric excess e.e. A typical example is presented in Fig. S7.

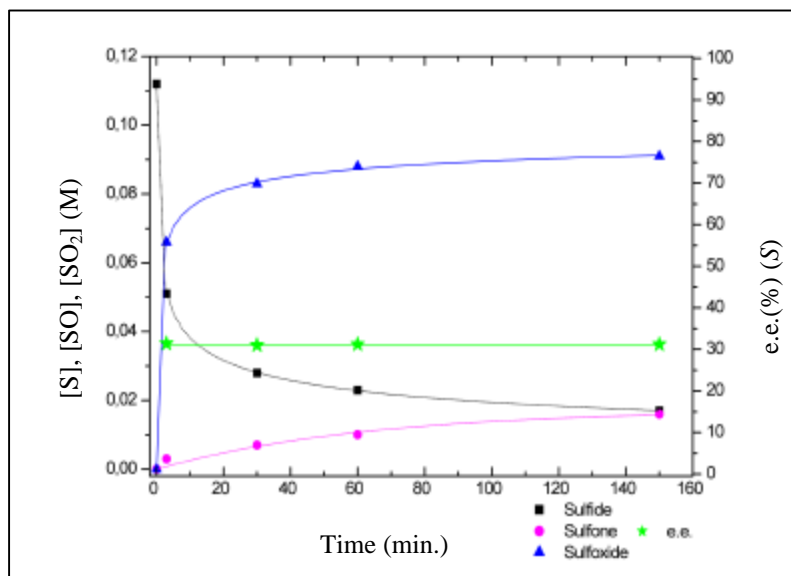
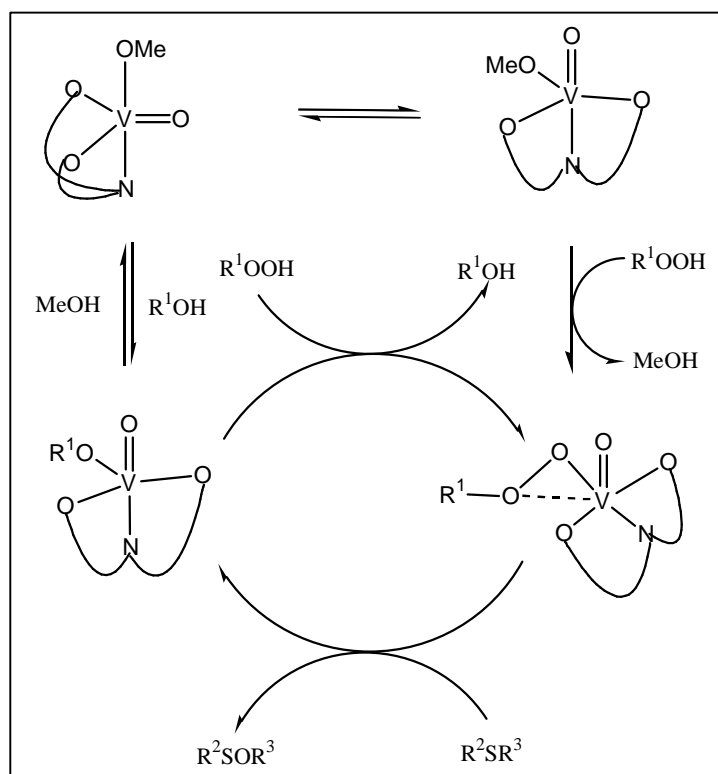


Fig. S7: Oxidation of MeSpTol mit CHP.

All of the complexes employed act as enantioselective catalysts. Their efficacy depends, however, on the nature of the complex, the substrate and the oxidant. A particularly high turn-over (of 100%) and reasonable e.e. (up to 31%) was observed for catalyst **8a** (cf. Fig. S2 left) if MeSpTol (with very different substituents on the sulfur) was used as the substrate and the sterically less prominent CHP as oxidant. According to  $^{51}\text{V}$  NMR studies of solutions of **11a** (Fig. S2 right) and the system  $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3/\mathbf{L4}$  in  $\text{CDCl}_3$  in the presence of TBHP, a peroxo complex, possibly of composition  $[\text{VO}(\text{OOR})\text{L}]$  is the active species. On this basis, a mechanism for the sulfide oxigenation is presented in Fig. S8.



**Fig. S8: Proposed mechanism for the sulfide oxigenation.**