

# Vitamin B<sub>12</sub>-katalysierte Elektrosynthese: Substrat-B<sub>12</sub>-Coadsorption an der «Glassy Carbon»-Kathode\*\*

Hans-Frieder Beer\*, Rolf Scheffold\*

**Abstract:** Adsorption of the catalyst in presence of substrate at a glassy-carbon electrode was found by means of current-concentration measurements with variable catalyst concentrations during the vitamin B<sub>12</sub> catalyzed electrochemical reduction of  $\beta$ -bromoethyl benzoat. No adsorption of the catalyst could be found in absence of substrate. An overlay of adsorption with a reaction of (pseudo) 1. order at the electrode surface was observed during experiments with variable substrate concentrations.

Vitamin B<sub>12</sub> ist an einer Vielzahl biochemischer Umsetzungen beteiligt<sup>[1]</sup>. Dabei werden unter Mitwirkung des im B<sub>12</sub>-Molekül enthaltenen leicht reduzierbaren Cobalt-Zentralatoms intermediär Metall-Kohlenstoff-Bindungen gebildet und gespalten.

Vitamin B<sub>12</sub> und verwandte Cobaltkomplexe können auch in vitro als Katalysatoren für synthetisch nützliche Reaktionen eingesetzt werden<sup>[4]</sup>. Erfolgt dabei die Reduktion  $\text{Co}^{\text{III}} \rightarrow \text{Co}^{\text{I}}$  elektrochemisch an einer Kohlenstoffelektrode, so resultieren ökologisch wenig bedenkliche Syntheseverfahren<sup>[5]</sup>.

Primäre Alkylhalogenide sind bis zu Potentialen von  $-2 \text{ V (Ag/Ag}^{\oplus})$  stabil. Katalyse durch Vitamin B<sub>12</sub> ermöglicht ihre reduktive Umpolung bei positiveren Potentialen, beispielsweise mit Zink oder an Quecksilberkathoden<sup>[6]</sup>. Wir haben nun diese katalysierte Reduktion an der «Glassy Carbon»-Kathode untersucht. Es stellte sich die Frage, ob dabei die Gesamt-

reaktion in der homogenen Lösung oder an der Elektrodenoberfläche abläuft. Als Modellreaktion wurde die reduktive Eliminierung der von Grimshaw<sup>[7a]</sup> für die Peptidsynthese eingeführten und von Semmelhack et al.<sup>[7b]</sup> auf Carbonsäuren übertragenen  $\beta$ -Halogenethylester-Schutzgruppe verwendet:

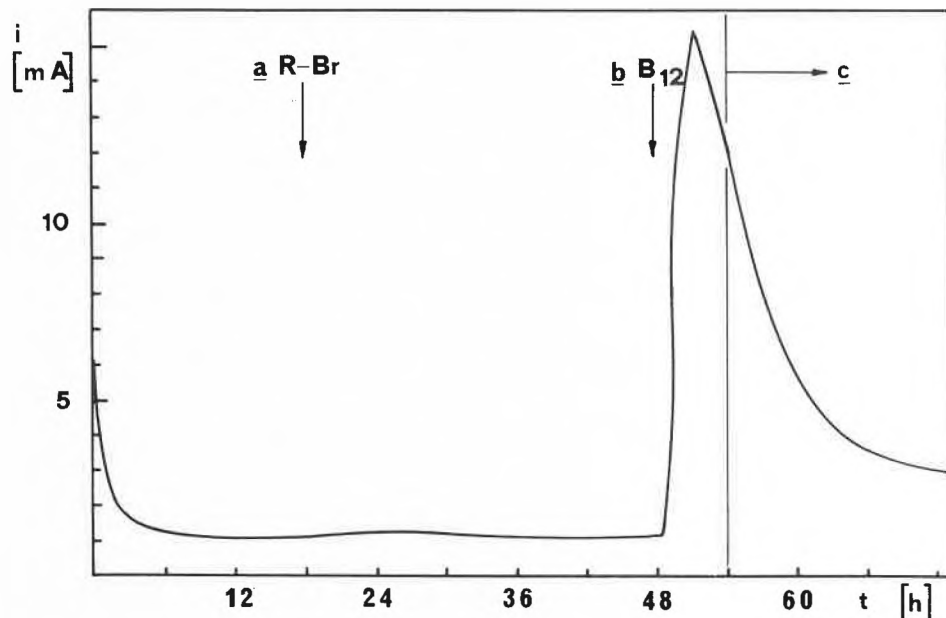


Fig. 1. Strom-Zeit-Diagramm einer Vitamin-B<sub>12</sub>-katalysierten elektrochemischen Reduktion. Raumtemperatur;  $-1.4 \text{ V (Ag/0.01 M AgNO}_3)$ ; Katholyt:  $0.2 \text{ M LiClO}_4$  in NMP. a) Zugabe von  $5 \text{ mmol } \beta\text{-Bromethylbenzoat}$ ; b) Zugabe von  $0.5 \text{ mmol Vitamin B}_{12}$ .

Die nicht-katalysierte elektrochemische Reduktion dieses Schutzgruppentyps wurde von Engels<sup>[8]</sup> an der Quecksilberkathode untersucht.

## Experimentelles

Präparative elektrochemische Experimente wurden unter kontinuierlicher Rückführung des Elektrolyten aus einem mit Argon gespülten Reservoir in einer «Electroprep-Cell» der Firma ECO durchgeführt. Glassy-Carbon-Kathode und DSA-Anode wurden durch eine Kationenaustauschmembran Nafion N 425 getrennt. *N*-Methylpyrrolidon (NMP) und  $\text{LiClO}_4$  sowie  $\text{NH}_4\text{ClO}_4$  bildeten das Lösungsmittel/Leitsalz-Gemisch. Das Katholytvolumen betrug  $80 \text{ mL}$  und die Durchflussgeschwindigkeit  $10 \text{ mL/min}$ . Elektrolysen wurden mit  $5 \text{ mmol } \beta\text{-Bromethylbenzoat}$  bei den zu den einzelnen Figuren angegebenen Potentialen ( $\text{Ag/0.01 N AgNO}_3$ ) und Konzentrationen von Leitsalz und Vitamin B<sub>12</sub> (Hydroxycobalamin-hydrochlorid) durchgeführt.

Konzentrations-Zeit-Kurven wurden an Proben, die durch ein in der Katholytrückleitung installiertes Septum gezogen wurden, mittels HPLC-Analyse gemessen. Die Analysen erfolgten mit einem Hochdruckflüssigchromatographen Waters 6000A und Liquiddetektor Perkin-Elmer LC-55B. Für die Trennung des Analysengemisches wurde eine Säule ( $4.6 \times 250 \text{ mm}$ ) der Firma Knauer, gefüllt mit Lichrosorb RP-18 von  $10 \mu\text{m}$  Korngrösse, und Acetonitril/Wasser ( $65:35 \text{ v/v}$ ) bei  $1.5 \text{ mL/min}$  verwendet.

## Das makroskopische Zeitgesetz

Im Verlauf präparativer Elektrolysen registrierte Strom-Zeit-Kurven, wie in Fig. 1 dargestellt, lassen sowohl die Stabilität des als Modellsubstrat verwendeten Esters beim gewählten Potential (Punkt a) als auch die nach der Zugabe von Vitamin B<sub>12</sub> (Punkt b) einsetzende Reduktion  $\text{Co}^{\text{III}} \rightarrow \text{Co}^{\text{I}}$  und anschliessende Katalyse (ab Punkt c) erkennen.

\* Korrespondenz: Dr. H.-F. Beer, Eidgenössisches Institut für Reaktorforschung CH-5303 Würenlingen

Prof. Dr. R. Scheffold, Institut für Organische Chemie, Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

19. Mitteilung über Synthese und Reaktionen porphyrinoider Metallkomplexe. Teil der Dissertation von H.-F. B.<sup>[1]</sup> Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung finanziell unterstützt. Prof. Dr. J. T. Clerc, Pharmazeutisches Institut der Universität Bern, danken wir für Diskussionsbeiträge. – 18. Mitteilung: <sup>[2]</sup>

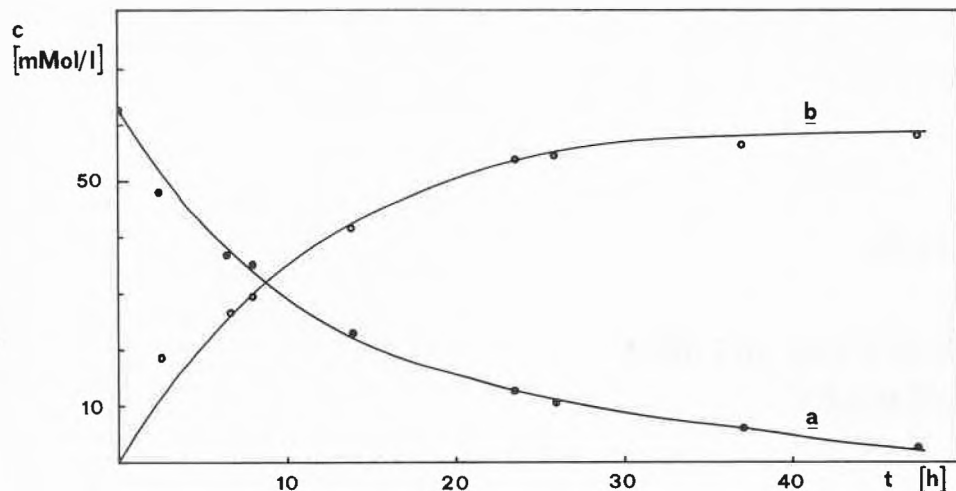


Fig. 2. Edukt- und Produktkonzentration in Abhängigkeit von der Elektrolysezeit: a)  $\beta$ -Bromethylbenzoat, b) Benzoesäure. Raumtemperatur;  $-2.0\text{ V}$  ( $\text{Ag}/0.01\text{ M AgNO}_3$ ); Katholyt:  $0.1\text{ M LiClO}_4$ ,  $0.1\text{ M NH}_4\text{ClO}_4$  in NMP.  $5\text{ mmol } \beta$ -Bromethylbenzoat,  $0.01\text{ mmol Vitamin B}_{12a}$ .

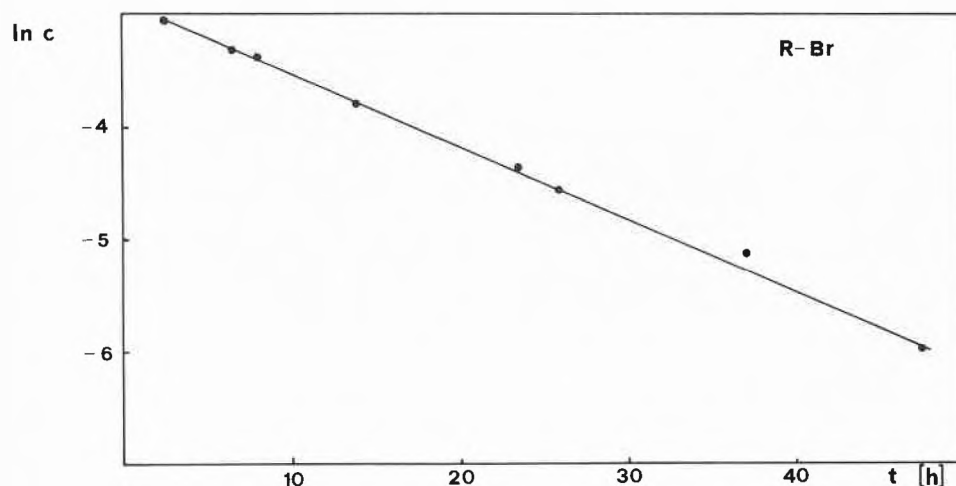


Fig. 3. Logarithmus der Eduktkonzentration in Abhängigkeit von der Elektrolysezeit (Zahlenwerte aus Fig. 2).

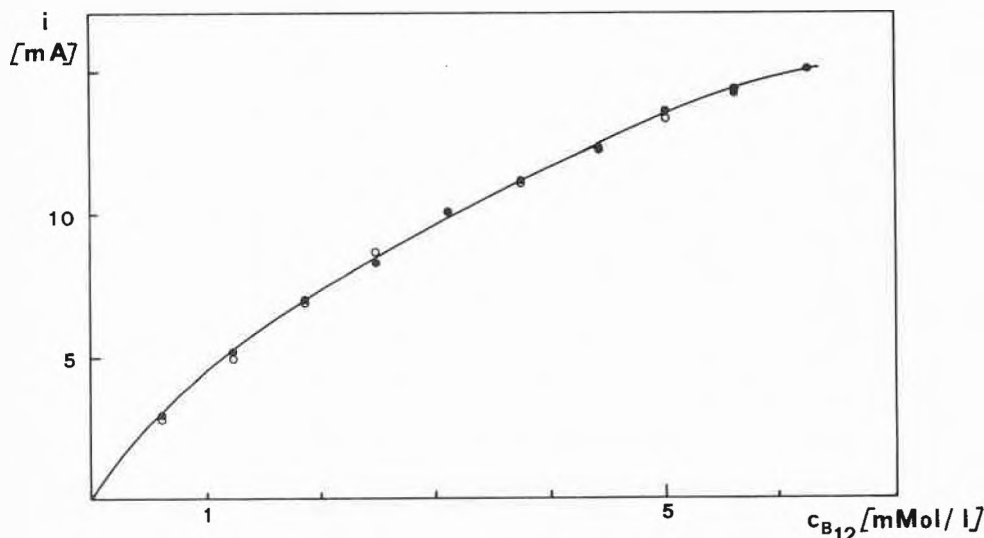


Fig. 4. Strom als Funktion der Vitamin- $\text{B}_{12a}$ -Konzentration in Gegenwart von Substrat, Bedingungen wie in Fig. 1,  $25^\circ\text{C}$ ,  $5\text{ mmol } \beta$ -Bromethylester. ● Messpunkte, ○ nach Gleichung (5) berechnete Werte.

Die Abhängigkeit der Edukt- und der Produktkonzentration von der Zeit ist in Fig. 2 dargestellt. Mit der in Fig. 3 dargestellten Geraden – Logarithmus der Eduktkonzentration als Funktion der Zeit – lässt sich für die Vitamin- $\text{B}_{12}$ -katalysierte Reduktion von  $\beta$ -Bromethylbenzoat ein Zeitgesetz 1. Ordnung nachweisen. Das gleiche Verhalten beobachtet man im abfallenden Teil (c) der Kurve in Fig. 1 für die Abhängigkeit des Stroms von der Zeit. Es wird in beiden Fällen dieselbe Geschwindigkeitskonstante ( $k = 1.1 \times 10^{-1}\text{ h}^{-1}$ ) erhalten.

Das beobachtete Geschwindigkeitsgesetz 1. Ordnung lässt zwei Interpretationsmöglichkeiten<sup>[9]</sup> offen: eine Reaktion (pseudo)erster Ordnung im «Bulk» oder an der Elektrodenoberfläche bzw. einen diffusionskontrollierten Umsatz.

Zur Unterscheidung zwischen beiden Möglichkeiten wurden die Aktivierungsenergie der Reaktion und der Einfluss der Durchflussgeschwindigkeit auf den Strom bestimmt<sup>[1]</sup>:

- Während für diffusionskontrollierte Reaktionen eine Aktivierungsenergie von ca.  $3\text{ kcal/mol}$  ( $12.6\text{ kJ/mol}$ ) zu überwinden ist<sup>[10]</sup>, wurde für das untersuchte System eine Aktivierungsenergie von  $10\text{ kcal/mol}$  ( $41.9\text{ kJ/mol}$ ) gefunden.
- Nach Pickett und Ong<sup>[11]</sup> hängt die Diffusionsgeschwindigkeitskonstante und damit der Strom für eine mit der verwendeten Apparatur vergleichbare Anordnung linear von der dritten Wurzel der Durchflussgeschwindigkeit ab. Unsere Untersuchungen ergaben jedoch einen vernachlässigbar kleinen Einfluss der Durchflussgeschwindigkeit auf den Strom.

Beide Ergebnisse weisen also nicht auf einen diffusions-, sondern auf einen reaktionskontrollierten Strom hin.

#### Konzentrationseffekte

Der der Katalyse vorgelagerte Teilschritt ist die Reduktion des Katalysators. In Abwesenheit von Substrat hängt der Strom linear von der Katalysatorkonzentration ab; er entspricht der Zweielektronen-Reduktion  $\text{Co}^{\text{III}} \rightarrow \text{Co}^{\text{I}}$ .

Im Gegensatz dazu findet man in Anwesenheit von Substrat für die Abhängigkeit des Stroms von der Katalysatorkonzentration einen nicht-linearen Zusammenhang, der ein Sättigungsverhalten erkennen lässt (vgl. Fig. 4). Im Hinblick auf möglicherweise stattfindende Adsorption wurden die in Fig. 4 dargestellten Messergebnisse auf ein der Langmuir-Isotherme entsprechendes Verhalten untersucht. Trägt man  $1/i$  gegen  $1/c(\text{B}_{12})$  auf, resultiert eine Gerade (Fig. 5).

Die Erklärung für dieses Verhalten ergibt sich aus Gleichung (1) für die Adsorption der elektroaktiven Spezies:

$$i = n F A k \Gamma \quad (1)$$

$n$ : Anzahl pro Formelumsatz ausgetauschter Elektronen

$F$ : Faraday-Konstante  
 $A$ : wirksame Oberfläche  
 $k$ : Geschwindigkeitskonstante des geschwindigkeitsbestimmenden Schritts

$\Gamma$  gibt die Oberflächenbedeckung in mol/cm<sup>2</sup> an und hängt von der Konzentration  $c(B_{12})$  in Form der Langmuir-Isotherme ab.

$$\Gamma = \Gamma_{\max} \frac{c(B_{12})}{B + c(B_{12})} \quad (2)$$

Kombination von (1) und (2) ergibt die stromanaloge Langmuir-Isotherme:

$$i = P \frac{c(B_{12})}{B + c(B_{12})} \quad (3)$$

$P$  (in mA) ergibt sich bei konstanter Substratkonzentration aus Gleichung (5) zu

$$P = K_1 \frac{c(\text{sub})}{S + c(\text{sub})} + K_2 \cdot c(\text{sub}) \quad (4)$$

Der katalytische Strom ist auch eine Funktion der Substratkonzentration. Für die einfache direkte Reduktion wäre ein linearer Zusammenhang zwischen  $i$  und  $c(\text{sub})$  zu erwarten.

Die bei der Untersuchung der Abhängigkeit des katalytischen Stroms von der Substratkonzentration ermittelte Kurve ist in Fig. 6 dargestellt: Die Kurvenform lässt die Annahme zu, dass einem Sättigungsprozess ein weiterer Prozess überlagert ist, der eine lineare Strom-Konzentrations-Abhängigkeit zeigt. Nach Abzug eines linearen Stromteils gemäß Gleichung (5) resultiert mit  $1/i$  gegen  $1/c(\text{sub})$  wiederum eine Gerade (Fig. 7)<sup>[12]</sup>.

Um die Strom-Konzentrations-Kurven in Fig. 4 und Fig. 6 zu bestimmen, wurde jeweils die Konzentration des einen Reaktionspartners konstant gehalten und die des anderen variiert. Kombiniert man beide Kurven, so wird die in Fig. 8 wiedergegebene gekrümmte Fläche erhalten. Diese Fläche wird durch die empirische Gleichung (5), in der  $i$  als Funktion von  $c(\text{sub})$  und  $c(B_{12})$  dargestellt ist, beschrieben.

$$i = K_1 \frac{c(B_{12})}{B + c(B_{12})} \cdot \frac{c(\text{sub})}{S + c(\text{sub})} + K_2 \frac{c(B_{12})}{B + c(B_{12})} \cdot c(\text{sub}) \quad (5)$$

In den Gleichungen (2)–(5) bedeutet

- $c(B_{12})$ : Konzentration von Vitamin B<sub>12</sub> [mmol/L]
- $c(\text{sub})$ : Konzentration von  $\beta$ -Bromethylester [mmol/L]
- $B, S$ : Konstanten [mmol/L]
- $K_1$ : Konstante [mA]
- $K_2$ : Konstante [mA · L/mmol]

Gleichung (5) erfüllt folgende Bedingungen:

- wird eine der beiden Konzentrationen Null, so ist auch  $i = 0$ ;
- bei konstanter Katalysatorkonzentration setzt sich der Strom additiv aus ei-

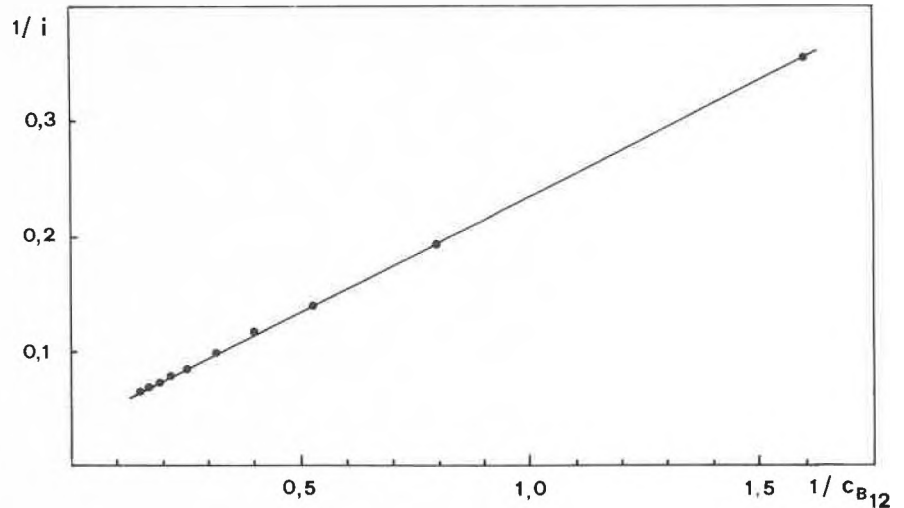


Fig. 5. Prüfung auf Langmuir-Isotherme (Zahlenwerte aus Fig. 4).

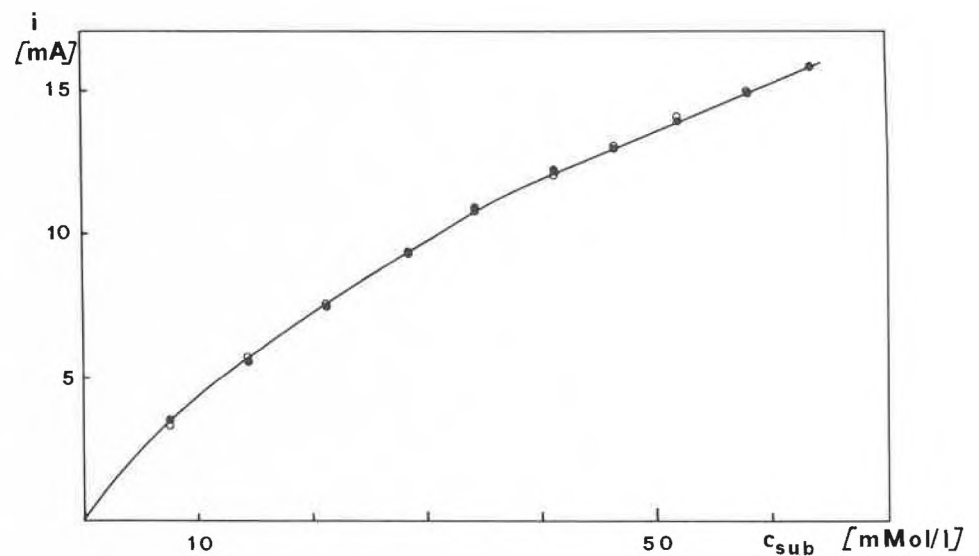


Fig. 6. Strom als Funktion der Substratkonzentration in Gegenwart von 0,5 mmol B<sub>12</sub>, Bedingungen wie in Fig. 1, 25°C. ● Messpunkte, ○ nach Gleichung (5) berechnete Werte.

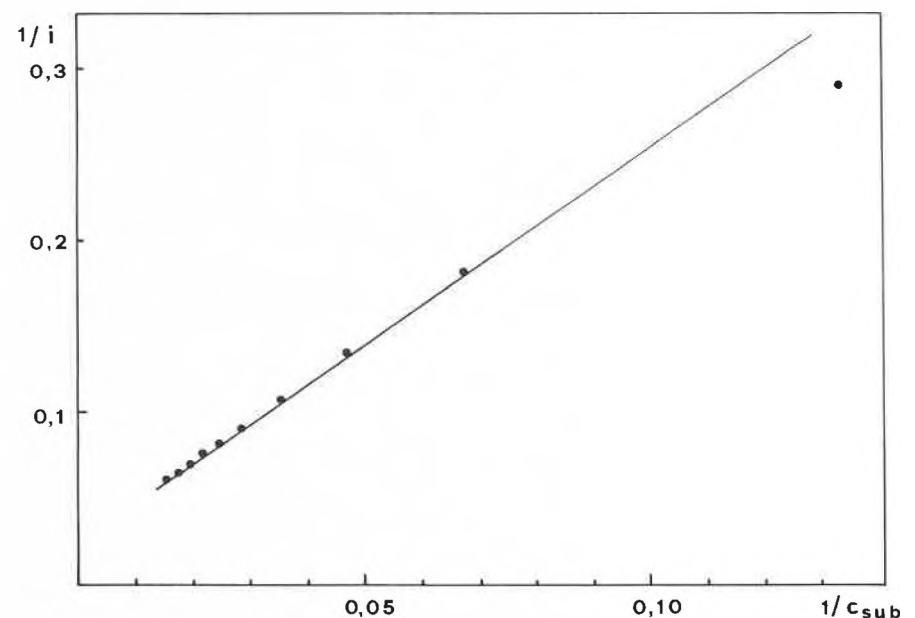


Fig. 7. Prüfung auf Langmuir-Isotherme der Kurve in Fig. 6 nach Abzug eines linearen Anteils.

Eingegangen am 1. März 1987 [FC 95]

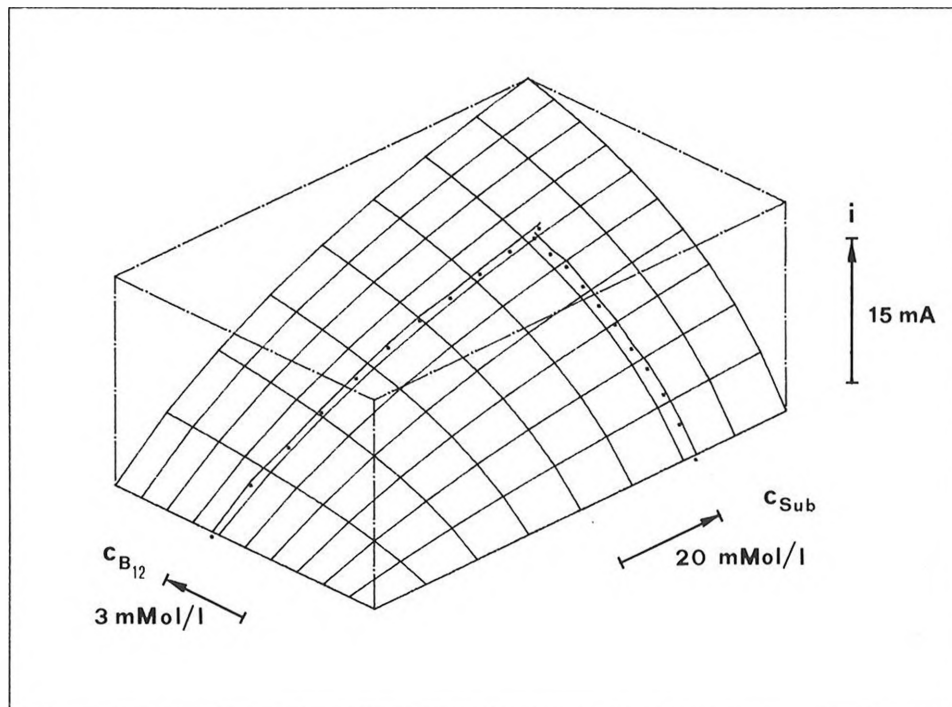


Fig. 8. Reaktionsisotherme für die Vitamin- $B_{12}$ -katalysierte Reduktion von  $\beta$ -Bromethylbenzoat, 25°C. Die mit Punkten gekennzeichneten Kurven entsprechen Fig. 4 und Fig. 6.

nem Sättigungsglied und einem linearen Glied zusammen;

– bei konstanter Substratkonzentration folgt der Strom einer Sättigungsfunktion.

Aus den Messergebnissen wurden die Konstanten der Gleichung (5) numerisch<sup>[13]</sup> bestimmt. Die mit diesen Zahlenwerten berechneten Punkte sind ebenfalls in Fig. 4 und Fig. 6 eingetragen und verdeutlichen die sehr gute Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen Werten<sup>[14]</sup>. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass beide Reaktionspartner an der Elektrodenoberfläche adsorbiert werden. Adsorption von Vitamin  $B_{12}$  ist durch Strom-Konzentrations-Messungen nur in Gegenwart von Substrat nachweisbar. Nach jeder Erhöhung der «Bulk»-Konzentration von Katalysator oder Substrat wird im Gleichgewicht auch die Oberflächenkonzentration erhöht, bis Sättigung der Elektrodenfläche eintritt.

#### Schlussfolgerung

Die Ergebnisse sind in Einklang mit der Annahme, dass die eigentliche Katalyse an einer aus Vitamin  $B_{12}$  und Substrat aufgebauten Coadsorbatschicht auf der Kohlenstoffkathode stattfindet<sup>[15]</sup>. Alle Messungen weisen auf Reduktion des Substrats unter Mitwirkung von an der Elektrodenoberfläche adsorbiertem Katalysator hin. Dies bedeutet, dass nur ein kleiner Bruchteil der gesamten Katalysatormenge unmittelbar an der Reaktion beteiligt ist, während der Hauptteil in homogener Lösung lediglich dazu dient, die mit der «Bulk»-Konzentration im Gleichgewicht stehende Adsorptionsschicht aufzubauen; der Anteil der über die Sättigungskonzentration hinausgeht, ist dabei unwirksam.

Die hier beschriebenen Befunde sind eine Grundlage zur Entwicklung von Elektroden mit an der Oberfläche immobilisiertem Katalysator; erste Ergebnisse liegen bereits vor<sup>[16]</sup>.

- [1] H.-F. Beer, Dissertation, Universität Bern (1984).
- [2] B. Steiger, L. Walder, R. Scheffold, *Chimia* 40 (1986) 93.
- [3] a) D. Dolphin:  $B_{12}$ , Vol. I, II, Wiley-Interscience, New York (1981); b) W. Friedrich, «Vitamin  $B_{12}$  und verwandte Corrinoid», in: *Fermente, Hormone, Vitamine*, Vol. III/2, Thieme, Stuttgart (1975); c) D. G. Brown, «The Chemistry of Vitamin  $B_{12}$  and Related Inorganic Model Systems», *Prog. Inorg. Chem.* 18 (1973) 177; d) J. M. Pratt: *Inorganic Chemistry of Vitamin  $B_{12}$* , Academic Press, New York (1972).
- [4] R. Scheffold, G. Rytz, L. Walder, «Vitamin  $B_{12}$  and Related Co-Complexes as Catalysts in Organic Synthesis», in R. Scheffold (Ed.): *Modern Synthetic Methods 1983, Transition Metals in Organic Synthesis*, Salle, Frankfurt am Main/Sauerländer, Aarau (1983).
- [5] R. Scheffold, *Chimia* 39 (1985) 203.
- [6] R. Scheffold, E. Amble, *Angew. Chem.* 92 (1980) 643; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 19 (1980) 629.
- [7] a) J. Grimshaw, *J. Chem. Soc.* (1965) 7136; b) M. F. Semmelhack, G. E. Heinson, *J. Am. Chem. Soc.* 94 (1972) 5139.
- [8] J. Engels, *Liebigs Ann. Chem.* (1980) 557.
- [9] Autorenkollektiv: *Technisch-Chemisches Praktikum*, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig (1977).
- [10] Autorenkollektiv: *Lehrwerk Chemie – Chemische Kinetik, Lehrbuch 6*, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig (1973).
- [11] D. J. Pickett, K. L. Ong, *Electrochim. Acta* 19 (1974) 875.
- [12] In Fig. 7 fällt für die kleinste Konzentration der Messwert aus dem linearen Verhalten heraus, vermutlich macht sich für diesen Wert der Messfehler im Kehrwert am stärksten bemerkbar. Für alle anderen Messpunkte wird Linearität entsprechend einer Langmuir-Isotherme erhalten.
- [13] Die numerische Bestimmung der Konstanten in Gleichung (5) erfolgte mit dem Programm PAR der Sammlung BMOP der University of California, Los Angeles (UCLA). Für  $c(B_{12}) = \text{konstant} = 6.25 \text{ mmol/L}$  und  $c(\text{sub}) = \text{konstant} = 62.5 \text{ mmol/L}$  wurde  $S = 72.25 \text{ mmol/L}$ ,  $B = 6.31 \text{ mmol/L}$ ,  $K_1 = 67 \text{ mA}$  und  $K_2 = 3.6 \cdot 10^{-3} \text{ mA} \cdot \text{L}/\text{mmol}$  erhalten.
- [14] Prüfung auf andere funktionelle Zusammenhänge, u.a. gemäss einer Freundlich-Isotherme, ergab von den Messergebnissen signifikant abweichende Resultate.
- [15] H. A. O. Hill, J. M. Pratt, M. P. O'Riordan, F. R. Williams, R. J. P. Williams, *J. Chem. Soc. A* (1971) 1859.
- [16] A. Ruhe, L. Walder, R. Scheffold, *Helv. Chim. Acta* 68 (1985) 1301.