

## 149. Über Pterinchemie

90. Mitteilung<sup>1)</sup>

### Synthese und Kristallstruktur des ersten chinoiden Dihydropterinmolybdän(IV)-Komplexes

von **Berthold Fischer** und **Joachim Strähle**

Institut für Anorganische Chemie der Universität, Auf der Morgenstelle 18, D-7400 Tübingen

und **Max Viscontini\***

Organisch-chemisches Institut der Universität, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(3.VII.91)

---

#### Synthesis and Crystal Structure of the First Quinoid Dihydropterinmolybdenum(IV) Complex

The first molybdenum(IV) complex with a quinoid dihydropterin, *i.e.* **2**, was isolated and characterized by IR, UV and NMR data and single-crystal X-ray diffraction. The reaction of  $\text{Mo}^{\text{VI}}\text{O}_2\text{Cl}_2$  with the biologically important  $6\beta$ -5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin<sup>2)</sup> (**7**) in MeOH gave almost quantitatively trichloro(1,5-quinoid-7,8-dihydro-6*H*-L-biopterin)oxomolybdenum(IV) (**2**). The complex crystallizes with one molecule of MeOH in the noncentrosymmetric orthorhombic space group  $P2_12_12_1$  (No. 19) with unit cell dimensions  $a = 1009.3(3)$ ,  $b = 1104.7(3)$ , and  $c = 1484.5(4)$  pm and  $Z = 4$ . The Mo-atom has a distorted octahedral geometry (*Fig. 1*). It is coordinated by N(5) and O(4) of the pterin ligand. The distance of the Mo–N(5) bond (202 pm) is unusually short compared to similar complexes. O(4) is located *trans* to a terminal oxo ligand. The octahedral coordination is completed by three Cl-atoms in a meridional arrangement. Complex **2**, with the Mo-atom in the enzyme-relevant oxidation state +IV and the pterin in the intermediate *quinoid* dihydro form, should lead to an extension of the proposed ‘common molybdenum cofactor’ model.

---

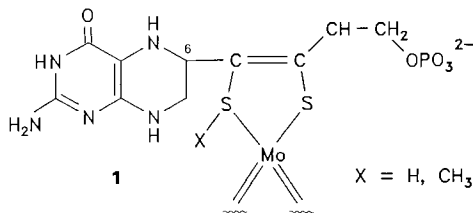
**1. Einleitung.** – Vor mehr als 20 Jahren wurde schon angenommen, dass das  $6\beta$ -5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin (**7**), welches als Cofaktor der Phenylalanin-hydroxylase wirkt, für die Teilnahme an der Enzym-Reaktion direkt mit  $\text{Fe}^{\text{II}}$  bzw.  $\text{Fe}^{\text{III}}$  koordiniert sein sollte [3–9]. Es schien uns wichtig zu untersuchen, ob Molybdän-Enzyme, die im Beisein eines hydrierten Pterin-Moleküls zahlreiche Reaktionen katalysieren, ebenfalls mit diesem hydrierten Pterin einen Komplex bilden können.

Molybdän-Enzyme werden in zwei Gruppen eingeteilt. Die Nitrogenase, die einen Eisen-Molybdän-Cofaktor besitzt, und die Nicht-Nitrogenase-Molybdän-Enzyme. Die letztgenannten enthalten einen Molybdän-Pterin-Komplex [10–15]. Mindestens 10 verschiedene Enzyme sollen dabei die gleiche Untereinheit, einen sogenannten ‘common molybdenum cofactor’ (= Mo-co), als Reaktionszentrum besitzen. Dieser Mo-co (s. **1**) besteht nach einem Vorschlag von *Rajagopalan et al.* [12] aus einem 6-substituierten

---

<sup>1)</sup> 89. Mitteilung: [1].

<sup>2)</sup> Wir benutzen für die hydrierten Pterine die konsequent und eindeutig von uns vorgeschlagene Nomenklatur [2]. Laut CIP-Regeln wäre die Konfiguration dieser Substanz 1*R*,2*S*,6*R*.



Tetrahydropterin mit S-Atomen an C(1') und C(2') der Seitenkette, die an das Mo-Atom koordiniert sein sollen. Die Koordinationssphäre des Mo-Atoms soll zusätzlich ein oder zwei terminale O- oder S-Atome enthalten, die als essentiell für die Aktivität der Enzyme angesehen werden. Diese Annahme, wie auch die Aussagen über die weitere Umgebung des Mo-Atoms, wurde im wesentlichen aus ESR- und EXAFS-Untersuchungen abgeleitet [15].

Einige Veröffentlichungen berichten von Komplexen der Pterine [16–18] und der verwandten Moleküle Flavin [19–22] und Isoalloxazin [23] mit Metallen wie Ag, Ni, Cu *etc.* Vor kurzem berichteten *Burgmayer et al.* [24] von einer Modellreaktion, bei der wahrscheinlich ein kurzlebiger Dihydropterinmolybdän-Komplex entsteht. Bis jetzt existieren aber nur drei kristallographisch charakterisierte Metall-Komplexe von oxidierten Pterinen [25–27].

Wir berichten hier von der Isolierung, spektroskopischen Charakterisierung und Einkristall-Strukturanalyse des Trichloro(1,5-quinoid-7,8-dihydro-6H-L-biopterin)oxomolybdän(IV) (**2**), des ersten Mo-Komplexes mit einem hydrierten Pterin. Damit konnte die vermutete Koordination des hydrierten Pterin-Gerüsts an das Metall-Atom nachgewiesen werden, was zu einer Erweiterung der Kenntnis über das Molybdän-Cofaktor-Modell führen sollte.

**2. Kristallstrukturbestimmung.** – Ein tiefroter Kristall von Trichloro(1,5-quinoid-7,8-dihydro-6H-L-biopterin)oxomolybdän(IV) (**2**) mit den ungefähren Abmessungen  $0,1 \times 0,075 \times 0,05 \text{ mm}^3$  wurde auf einem Glasfaden montiert und bei  $-60^\circ$  unter  $\text{N}_2$  vermessen. Aus den systematischen Auslöschungen ergab sich die nicht-zentrosymmetrische Raumgruppe  $P2_12_12_1$  (Nr. 19). Die Messung der 3618 Reflexintensitäten erfolgte mit monochromatischer  $\text{CuK}_\alpha$ -Strahlung und  $\omega/\theta$ -scans im Beugungswinkelbereich von  $\theta = 3-69^\circ$ . Die genauen Gitterkonstanten (Tab. 1) wurden auf dem automatischen Einkristall-Diffraktometer anhand von 25 Reflexen hoher Beugungswinkel genau bestimmt und nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate verfeinert. Von den 3618 gemessenen Reflexen verblieben 2914 mit einer Intensität  $I \geq 3\sigma$ . Die Lageparameter des Mo-Atoms und der Cl-Atome ergaben sich aus einer *Patterson-Synthese* [29]. Nachfolgende *Differenz-Fourier-Synthesen* [30] erbrachten dann alle weiteren Atome des Komplexes einschliesslich der H-Atome, ausser dem H-Atom am O-Atom des Solvatmole-

Tab. 1. Kristalldaten von  $[\text{MoOCl}_3(\text{H-q-BH}_2)](\mathbf{2}) \cdot \text{MeOH}$

Formel	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{Cl}_3\text{MoN}_5\text{O}_5$
Molmasse	491,59
Kristallsystem	orthorhombisch
Raumgruppe	$P2_12_12_1$ (Nr. 19)
Gitterkonstanten bei $-60^\circ$	
<i>a</i>	1009,3(4) pm
<i>b</i>	1104,7(1) pm
<i>c</i>	1484,5(2) pm
Zellvolumen <i>V</i>	$1709,2 \cdot 10^6 \text{ pm}^3$
Formeleinheiten <i>Z</i>	4
Dichte $\rho_x$	$1,910 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$
Messtemperatur <i>T</i>	$-60^\circ$

Tab. 1 (Forts.)

Absorptionskoeffizient $\mu(\text{CuK}\alpha_2)$	111,504 cm <sup>-1</sup>
Extinktionskoeffizient	4,760 · 10 <sup>-8</sup>
Messbereich $\theta$	3–69°
Messmethode	$\omega/\theta$ -'scans'
Kristallgrösse [mm]	0,1 × 0,075 × 0,05
Messinstrument	CAD4-Enraf-Nonius
Absorptionskorrektur	DIFABS [28]
Maximale Absorptionskorrektur	1,3365
Minimale Absorptionskorrektur	0,8891
Durchschnittl. Absorptionskorrektur	1,0046
Strukturermittlung	Patterson-Fourier-Methoden [29] und Differenz-Fourier-Synthese [30]
H-Atomlagen	in Differenz-Fourier-Synthese gefunden und in Strukturfaktorrechnung einbezogen
Anzahl der gemessenen Reflexe	3618
Anzahl der Reflexe mit $I \geq 3 \sigma(I)$	2914
Anzahl der verfeinerten Parameter	268
R-Wert	0,036 (inverses Modell: 0,047)
R <sub>w</sub> -Wert	0,039 (inverses Modell: 0,051)

Tab. 2. Ausgewählte Bindungsabstände [pm] in (2). Standardabweichungen in Klammern.

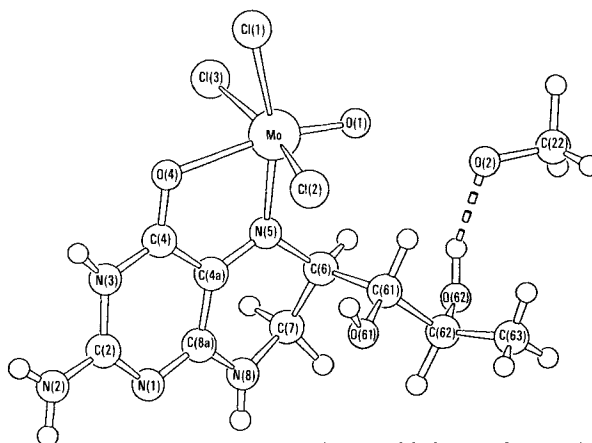
	Abstand		Abstand		Abstand
Mo–Cl(1)	238,0(2)	N(1)–C(2)	133,0(8)	N(8)–C(8a)	133,2(7)
Mo–Cl(2)	240,2(2)	N(1)–C(8a)	134,6(7)	C(4)–C(4a)	140,1(8)
Mo–Cl(3)	240,2(2)	N(2)–C(2)	132,3(8)	C(6)–C(7)	153,2(9)
Mo–O(1)	165,8(4)	N(3)–C(2)	138,8(8)	C(6)–C(61)	157,4(9)
Mo–O(4)	222,9(4)	N(3)–C(4)	135,0(8)	C(4a)–C(8a)	142,6(7)
Mo–N(5)	201,7(4)	N(5)–C(6)	148,4(8)	H(3)–O(62)	187,4(4)
O(4)–C(4)	127,4(7)	N(5)–C(4a)	133,4(8)	H(062)–O(2)	181,5(6)
O(61)–C(61)	139,2(8)	N(8)–C(7)	145,5(8)	H(22)–O(61)	193,9(4)
O(62)–C(62)	143,1(8)				

Tab. 3. Ausgewählte Bindungswinkel [°] in 2. Standardabweichungen in Klammern.

	Winkel		Winkel
Cl(1)–Mo–Cl(2)	87,3(7)	C(2)–N(3)–C(4)	119,6(5)
Cl(1)–Mo–Cl(3)	86,6(6)	C(6)–N(5)–C(4a)	114,5(4)
Cl(1)–Mo–O(1)	104,9(2)	Mo–N(5)–C(6)	125,8(4)
Cl(1)–Mo–O(4)	88,8(2)	Mo–N(5)–C(4a)	119,2(4)
Cl(1)–Mo–N(5)	162,8(1)	C(7)–N(8)–C(8a)	118,4(5)
Cl(2)–Mo–Cl(3)	165,8(7)	N(5)–C(6)–C(61)	108,2(5)
Cl(2)–Mo–O(1)	98,8(2)	N(5)–C(6)–H(6)	115,9(5)
Cl(2)–Mo–O(4)	81,7(1)	C(7)–C(6)–C(61)	115,8(5)
Cl(2)–Mo–N(5)	88,2(1)	N(8)–C(7)–C(6)	112,0(5)
Cl(3)–Mo–O(1)	95,1(2)	N(1)–C(8a)–N(8)	120,6(5)
Cl(3)–Mo–O(4)	85,4(1)	N(1)–C(8a)–C(4a)	122,6(5)
Cl(3)–Mo–N(5)	94,0(1)	N(8)–C(8a)–C(4a)	116,8(5)
O(1)–Mo–O(4)	166,3(2)	O(61)–C(61)–C(62)	107,2(5)
O(1)–Mo–N(5)	92,2(2)	C(6)–C(61)–C(62)	110,7(5)
O(4)–Mo–N(5)	74,1(2)	O(62)–C(62)–C(61)	109,9(5)
Mo–O(4)–C(4)	112,1(4)	O(62)–C(62)–C(63)	110,3(5)
C(2)–N(1)–C(8a)	116,7(5)	O(61)–C(61)–C(6)	113,3(5)

küls MeOH. Alle Atome, mit Ausnahme der H-Atome, wurden anisotrop verfeinert. Die Lagen der H-Atome wurden nicht verfeinert und mit konstanten Temperaturfaktoren  $B = 4 \cdot 10^4 \text{ pm}^2$  in die Strukturfaktor-Rechnung einbezogen. Die Strukturverfeinerung erlaubte die Bestimmung der absoluten Struktur. Der  $R$ -Wert des richtigen Enantiomeren konvergierte zu 0,036, während das andere zu  $R = 0,047$  führte. Die gefundenen Methyl-H-Atome wurden mit Hilfe des Programms Hydro korrigiert [30]. Ausgewählte Bindungsabstände und Winkel sind in *Tab. 2* und *3* angegeben, Ortsparameter und äquivalente isotrope Temperaturparameter wurden im *Cambridge Crystallographic Data Centre* hinterlegt.

**3. Diskussion der Struktur.** – Die molekulare Struktur von **2**·CH<sub>3</sub>OH im Kristall (*Fig. 1* [31]) besteht aus dem mononuklearen Metall-Komplex und einem MeOH-Solvatmolekül. Das H-Atom der OH-Gruppe an C(62) bildet eine H-Brücke mit dem O-Atom



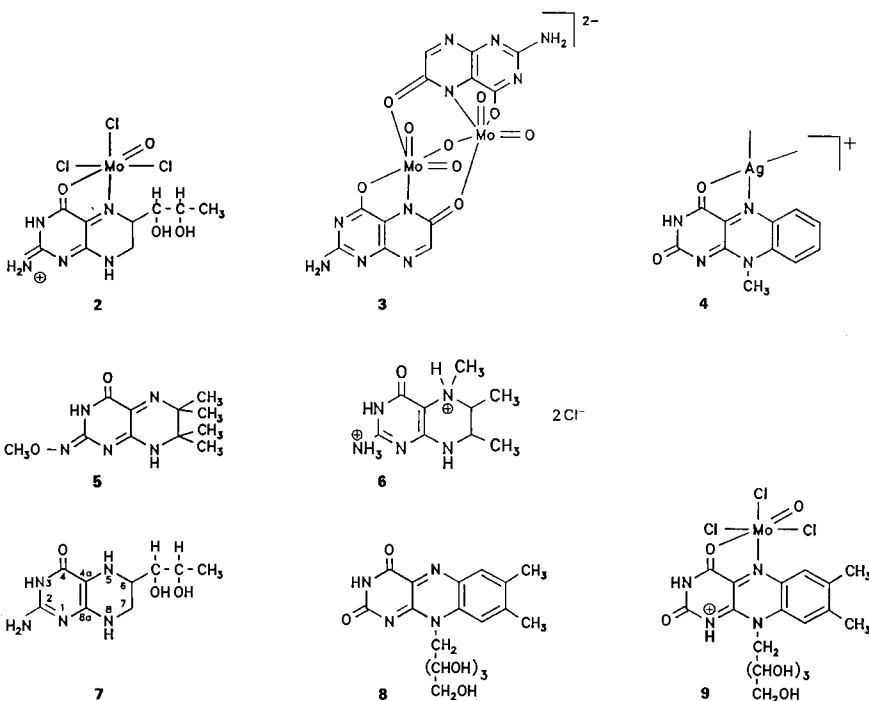
*Fig. 1. Molekulare Struktur von 2·MeOH im Kristall*

des MeOH. Weitere intermolekulare H-Brücken treten zwischen den Atomen O(62) und H–N(3) und O(61) und H–N(2) auf. In **2** ist das Mo-Atom stark verzerrt oktaedrisch von N(5) und O(4) des Pterin-Systems, drei meridional angeordneten Cl-Liganden und einem terminalen Oxo-Liganden koordiniert. Die Verzerrung des Oktaeders ist auf die Chelatisierung durch das Pterin-System und auf den *trans*-Effekt des Oxo-Liganden zurückzuführen. Der gefundene (Mo–O(1))-Abstand liegt mit 165,8 pm im Bereich der Erwartung für terminale Oxo-Gruppen. Aufgrund des *trans*-Effektes ist das Mo-Atom aus der Ebene, die durch das N-Atom und die drei Cl-Liganden aufgespannt wird, in Richtung auf O(1) zu verschoben. Trotz vorhandener Cl- und N-Liganden ist O(4) des Pterins *trans*-ständig zum terminalen Oxo-Liganden angeordnet. Diese Tatsache und der Doppelbindungsabstand von 127,4 pm zwischen C(4) und O(4) lassen auf eine schwach koordinative Bindung zwischen Mo-Atom und O(4) schliessen, die mit 222,9 pm entsprechend lang ist. Dies ist ein entscheidender Unterschied bei der Koordination von oxidierten und reduzierten Pterinen an das Mo-Atom.

In *Tab. 4* werden die wichtigsten Bindungslängenunterschiede von **2** und dem bisher einzigen kristallographisch charakterisierten Pterinmolybdän-Komplex **3** [25] aufgeführt, dessen Ligand Xanthopterin statt, wie in **2**, ein oxidiertes Pterin ist. Im Gegensatz zu **2** trägt im Komplex **3** das N(3) kein Proton, und der (Mo–O(4))-Abstand von 208 pm

Tab. 4. Vergleich der wichtigsten Bindungsabstände [pm] in 2–4

[MoOCl <sub>3</sub> (H-q-BH <sub>2</sub> )] (2)		[Mo <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (Xanthopterinat) <sub>2</sub> ] <sup>2-</sup> (3)		[Ag(10-Methylisalloxazin)] <sup>+</sup> (4)	
Mo–O(1)	165,8(4)	Mo–O(1)	169,1(7)		
		Mo–O(2)	170,7(5)		
Mo–O(4)	222,9(4)	Mo–O(4)	208,4(5)	Ag–O(4)	248,4(6)
		Mo–O(6)	224,6(6)		
Mo–N(5)	201,7(4)	Mo–N(5)	232,4(6)	Ag–N(7)	229,4(6)



repräsentiert eine Einfachbindung. Beim Xanthopterinat-Komplex **3** ist der Abstand Mo–N(5) mit 232 pm im Rahmen dessen, was man bei der Koordination eines sterisch gehinderten, bicyclischen Liganden erwartet [32]. Bei der Koordination von Pyridin findet man hingegen (Mo–N)-Abstände von 217–221 pm [33]. Bei **2** ergibt sich ein kurzer (Mo–N(5))-Abstand von 202 pm, der sich möglicherweise durch die Einbeziehung der (Mo–N(5))-Bindung in ein tautomeres Pterin-System erklären lässt. Der Ag-Flavin-Komplex **4** von *Fritchie* [23] weist ebenfalls eine Metall-Koordination durch die Atome N(5) und O(4) auf, aber auch hier ist der (Ag–N(5))-Abstand mit 229 pm grösser, obwohl das Flavin einen dem Dihydropterin vergleichbaren Oxidationszustand einnimmt.

Das Pterin liegt in **2**, nach den vorliegenden Daten, in einer 1,5-chinoiden *N*<sup>2</sup>-protonierten 7,8-Dihydro-6*H*-Form vor. Von besonderer Bedeutung sind dabei die Bindung C(4a)–N(5), die mit 133 pm als Doppelbindung, und die Bindung C(4a)–C(8a), die mit 142 pm als Einfachbindung interpretiert werden müssen. Die Bindungslänge C(8a)–N(8) beträgt ebenfalls 133 pm, was für eine Einfachbindung zu kurz scheint. Man sollte jedoch

das System N(2)–C(2)–N(1)–C(8a)–N(8) als ein mesomeres betrachten, was zu einem Bindungslängenausgleich führt.

In *Tab. 5* werden Daten des Pterin-Gerüsts von **2** mit den signifikanten Abständen des einzigen kristallographisch charakterisierten 1,5-chinoiden Pterin, des 3,6,7,8-Tetrahydro-2-(methoxyimino)-6,6,7,7-tetramethylpteridin-4(3*H*)-ons (**5**) [34], und mit denjenigen des 5,6,7,8-Tetrahydro-5,6,7-trimethylpterin-dihydrochlorid-monohydrats (**6**·H<sub>2</sub>O) [35] verglichen. Ähnlich wie bei **6** weisen die Bindungen N(1)–C(2) (133 pm) und N(8)–C(8a) (133,2 pm) von **2** weitgehenden Doppelbindungscharakter auf, was für eine starke Delokalisierung der positiven Ladung spricht. Davon ausgenommen ist die Bindung N(3)–C(2) (138,8 pm), die auf die Ausbildung eines exocyclisch- und *para*-ungesättigten Tautomeren der chinoiden Spezies hinweist, wie das bei **5** der Fall ist. In **2** findet man wie in **5** eine konjugierte 1,2-Diimino-Einheit (N(1)–C(8a)–C(4a)–N(5)). Eine vinyloge Amid-Gruppierung (N(8)–C(8a)–C(4a)–C(4)) wie bei **6** schliessen *Noar et al.* [34] für **5** aufgrund der langen Bindung C(4a)–C(4) von 151 pm aus. Im Fall von **2** beträgt der Abstand C(4a)–C(4) hingegen nur 140 pm. Möglicherweise kann man eine 'vinyloge' Amid-Gruppierung unter Einbeziehung des Mo-Atoms diskutieren (C(4)–C(4a)–N(5)–Mo). Dies wäre zugleich eine zusätzliche Erklärung für den kurzen Abstand Mo–N(5).

Tab. 5. Vergleich ausgewählter Abstände [pm] der Pterin-Gerüste von **2**, **5** und **6**

	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>6</b>		<b>2</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
N(1)–C(2)	133,0(8)	136,2(6)	132,6	N(5)–C(6)	148,4(8)	149,9(7)	152,9
N(1)–C(8a)	134,6(7)	128,8(6)	137,7	N(8)–C(7)	145,5(8)	147,0(7)	146,3
N(2)–C(2)	132,3(8)	129,3(5)	131,8	N(8)–C(8a)	133,2(7)	133,8(6)	131,8
N(3)–C(2)	138,8(8)	141,4(6)	134,4	C(4)–C(4a)	140,1(8)	151,0(6)	139,7
N(3)–C(4)	135,0(8)	136,0(7)	140,0	C(6)–C(7)	153,2(9)	148,2(8)	152,4
N(5)–C(4a)	133,4(8)	125,8(5)	146,4	C(4a)–C(8a)	142,6(7)	148,0(7)	137,6

Der Pyrimidin-Ring von **2** ist wie in den beiden Vergleichsmolekülen **5** und **6** planar, wenn auch die Abweichungen der einzelnen Atome zum Teil bis zu 5,6 pm betragen. Wenn man die durch die Koordination bewirkte Verzerrung des Pterin-Systems in Betracht zieht, liegen N(2) (11,8 pm), N(5) (18,5 pm) und auch N(8) (–19,5 pm) noch annähernd in der Pyrimidin-Ebene. Selbst C(6) befindet sich, trotz der angeknüpften Dihydroxypropyl-Gruppe, nur 26,3 pm über der Pyrimidin-Ebene. C(7) liegt hingegen mit 53,2 pm deutlich unter dieser Ebene. Die Atome Mo, O(4), C(4), C(4a) und N(5) bilden einen ebenfalls fast planaren Chelat-Fünfring mit Abweichungen bis zu 7,9 pm. Die berechneten Ausgleichsebenen für den Pyrimidin-Ring und den fünfgliedrigen Chelat-Ring weisen einen Interplanarwinkel von 10,2° auf.

**4. Spektroskopische Eigenschaften.** – Die spektroskopische Charakterisierung von **2** in Lösung erweist sich wegen teilweiser Zersetzung des Komplexes als schwierig. Zugleich ist diese Zersetzung jedoch im Vergleich mit der natürlichen Enzym-Reaktion von Interesse. Die Bildung von **2** findet in leicht saurem Milieu statt, wodurch dieses stabilisiert und fast quantitativ gebildet wird (*Gl. 1*). Beim erneuten Lösen der Substanz in verschiedenen Lösungsmitteln findet eine teilweise Spaltung des Komplexes unter Umkehrung der Entstehungsreaktion zu **7** und Molybdän in der Oxidationsstufe +VI statt, bis ein Gleichgewicht erreicht ist (*Gl. 2*). In DMSO zeigt das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (*Fig. 2a*) zu

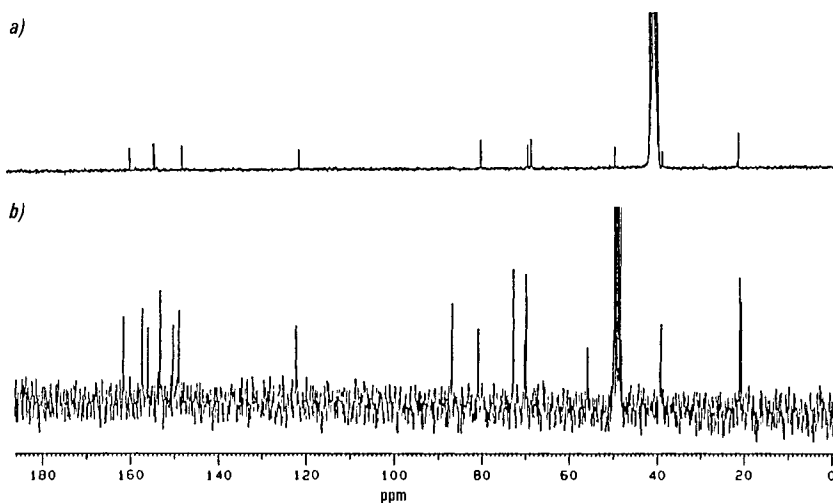


Fig. 2.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren von **2** a) in DMSO und b) in MeOH nach ca. 2 h. MeOH-Solvmolekül bei 49 ppm (Fig. 2a).

Beginn die eindeutigen Signale von **2**. Ca. 1–2 h später beobachtet man, in MeOH, neben den Signalen des Metall-Komplexes **2** weitere Signale, die dem Ausgangsprodukt **7** zugeordnet werden können (Fig. 2b). Wir werden später auf diese erstaunliche Beobachtung zurückkommen.

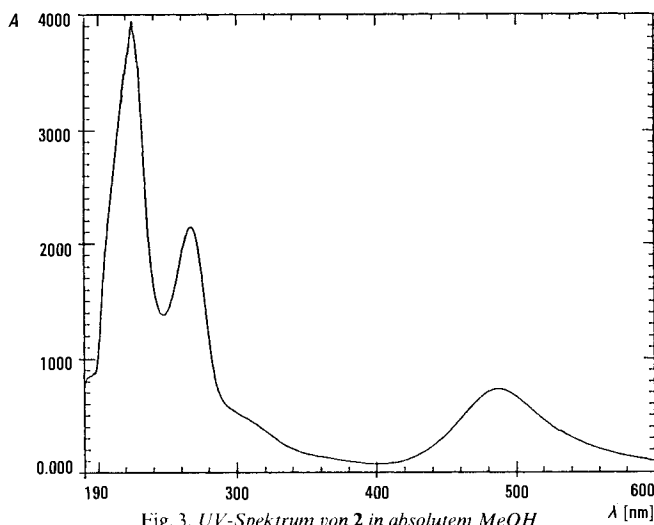
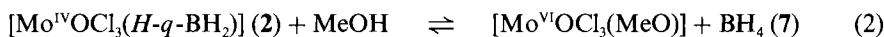
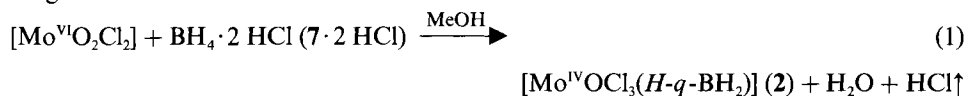


Fig. 3. UV-Spektrum von **2** in absolutem MeOH

Im UV-Spektrum von **2** findet man neben den Maxima bei 220 und 268 nm eine charakteristische neue Bande bei 487 nm, die die tiefrote Farbe des Komplexes in Lösung hervorruft (Fig. 3). Eine schwache Schulter bei ca. 300 nm kann ebenfalls der Dihydro-Form zugeordnet werden [36]. Die Rückreaktion (Gl. 2) äussert sich in einer Intensitätsabnahme der Absorption bei 487 nm innerhalb mehrerer h auf ca. 50–70% der Anfangsintensität. Die Intensität der Schulter bei 300 nm nimmt wenig, die des Maximums bei 268 nm nur sehr wenig ab. Bei Ausschluss von Luft-O<sub>2</sub> und Feuchtigkeit bleibt das Spektrum dann unverändert. Der Extinktionskoeffizient der Bande bei 487 nm lässt sich zu ungefähr  $\epsilon = 2000$  bestimmt, was auf einen 'charge-transfer'-Charakter hinweist [37]. Ein Vergleich der spektroskopischen Daten von **2** mit den analogen Werten des Mo<sup>IV</sup>-Komplexes **9** des Riboflavins (**8**), der ebenfalls in chinoider Form vorliegt, erweist sich als sehr aussagekräftig. Komplex **9** wurde analog zu Selbin *et al.* [22] aus **8** und MoCl<sub>4</sub> in MeOH in einer heterogenen Reaktion hergestellt. Auch im UV-Spektrum von **9** taucht gegenüber **8** eine neue Absorption bei 523 nm auf (Tab. 6).

Tab. 6. UV-Absorptionsdaten (in MeOH) von 6 $\beta$ -BH<sub>4</sub> (**7**), Riboflavin (**8**) und deren Mo<sup>IV</sup>-Komplexe **2** bzw. **9**

	7·2 HCl	<b>2</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
$\lambda_{\max}$ [nm]	221, 267	223, 267, 487	220, 261, 347, 406, 441	209, 258, 308, 377, 410 (sh), 523

Aufgrund der oftmals schwierigen Interpretation der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Tetrahydropterine, verursacht durch zusammenfallende *m* der Protonen an C(6), C(7), C(1') und C(2'), hat sich die <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie als aussagekräftigere Methode erwiesen. Dies gilt auch für die Dihydropterinmolybdän-Komplexe. In Tab. 7 sind die <sup>13</sup>C-NMR Daten der Ausgangsverbindungen **7** und **8**, der entsprechenden Mo<sup>IV</sup>-Komplexe **2** und **9** sowie von **5** aufgeführt. Besondere Beachtung verdient das Signal des Brückenkopf-Atoms C(4a). Es reagiert charakteristisch auf Veränderungen der elektronischen Umgebung und hat sich als entscheidendes Merkmal für eine Komplexbildung am Metall erwiesen. So verschiebt sich das C(4a)-Signal des Tetrahydropterins **7** nach Koordinierung des Mo-Atoms um über 30 ppm zu tieferem Feld (C(4a) von **2** bei 120,6 ppm). Im Vergleich zu **5** (C(4a) bei 146,2 ppm) bedeuten die Werte, dass das C(4a)-Signal eines chinoiden Dihydropterin-Systems durch die Komplexbildung um ca. 25 ppm hochfeldverschoben wird. Gestützt wird diese Annahme durch den Vergleich mit den Riboflavin-Verbindungen **8** und **9** (C(4a) des chinoiden **8** bei 135,7 ppm und des Mo-Komplexes **9** bei 116,6 ppm). Ein zusätzliches Indiz für die Komplexbildung in **2** liefert die Tieffeldverschiebung des C(6)-Signals im Vergleich zum Tetrahydropterin **7** (als auch zum chinoiden Pterin **5**) um über 20 ppm. Auch das C(4)-Signal wird durch Komplexbildung um ca. 4 ppm tieffeldverschoben (vgl. auch **8** und **9**).

Tab. 7. <sup>13</sup>C-NMR-Signale der Ring-C-Atome von **2**, **5** und **7–9**.  $\delta$  in ppm bzgl. (D<sub>6</sub>)DMSO (39,5 ppm) oder CD<sub>3</sub>OD (49,0 ppm). Verschiebungen wurden relativ zum CDCl<sub>3</sub>-Pik einer 10%-Ethylbenzol/CDCl<sub>3</sub>-Lösung angegeben.

	C(4)	C(2)	C(8a)	C(4a)	C(6)	C(7)	Ref.	C(4)	C(2)	C(10a)	C(4a)	C(5a)	C(9a)	Ref.
<b>7</b> <sup>a)</sup>	156,0	152,8	150,7	85,3	54,1	37,6		<b>8</b> <sup>a)</sup>	159,9	155,5	150,8	135,7	146,0	136,7 [38]
<b>2</b> <sup>a)</sup>	159,6	154,0	147,5	120,6	79,1	37,6		<b>9</b> <sup>c)</sup>	163,2	149,3	148,1	116,6	141,1	140,0
<b>5</b> <sup>b)</sup>	159,7	150,2	149,9	146,2	65,6	57,1	[34]							

<sup>a)</sup> In (D<sub>6</sub>)DMSO. <sup>b)</sup> In D<sub>2</sub>O bei pH 4,5. <sup>c)</sup> In CD<sub>3</sub>OD.

Burgmayer *et al.* gaben für die Unterscheidung von freiem und komplexiertem Pterin im IR-Spektrum (KBr) zwei Hauptmerkmale an [25] [26]: die Carbonyl-Bande bei 1750–1650 cm<sup>-1</sup> verschwindet bei der Komplexbildung, und drei neue Banden bei 1580, 1520 und 1500 cm<sup>-1</sup> tauchen auf. Dies gilt für Metall-Komplexe mit oxidierten Pterinen. Bei unserem Mo-Komplex **2** mit chinoidem Dihydropterin bleibt die Carbonylbande erhalten und wird nur minimal von 1704 auf 1696 cm<sup>-1</sup> verschoben (s. Tab. 8). Dies steht im Einklang mit der in der Kristallstruktur gefundenen Doppelbindung zwischen C(4) und O(4). Weiterhin tauchen in **2** neue Banden bei 1630, 1620 und ebenfalls bei 1502 cm<sup>-1</sup> auf, die einer (C=C=N)-Kombinationsschwingung zugeordnet werden kann [26]. Die typische Absorption einer terminalen (Mo=O)-Schwingung erscheint bei 982 cm<sup>-1</sup>. Auch im Falle der IR-Spektroskopie bietet sich der Vergleich mit den Flavinen und deren [Mo<sup>IV</sup>OC<sub>3</sub>]-Komplexen an. Selbin *et al.* [22] beschreiben die IR-Spektren von Flavinmolybdän-Komplexen. Die Spektren der Flavine unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der Pterine; die Hauptunterschiede bestehen im Auftreten einer zusätzlichen (C=O)-Schwingung



Tab. 8. IR-Daten [ $\text{cm}^{-1}$ ] von **7** des Mo-Komplexes **2**, von **8** und des Mo-Komplexes **9**

	$\tilde{\nu}(\text{C-H}), \tilde{\nu}(\text{O-H}), \tilde{\nu}(\text{N-H})$	$\tilde{\nu}(\text{C=O})$	$\tilde{\nu}(\text{C-O}), \tilde{\nu}(\text{C=N}), \tilde{\nu}(\text{C=C})$	$\tilde{\nu}(\text{Mo=O})$	$\delta(\text{C-H}),$ andere
<b>7</b>	3300s, 3221vs, 3120m, 2966m, 2900m, 2822m, 2686s, 2628s, 2500m, 2448m	1704vs	1669vs, 1579s, 1550 (sh), 1472m, 1460m, 1370m, 1357m, 1330s, 1307m		1230m, 1154m, 1128m, 1080m, 1073s, 1036m, 938w, 901w, 794m, 734m, 644m
<b>2</b>	3332vs, 3200 (sh), 2980s, 2925s, 2640 (sh), 2400 (sh)	1696s	1659vs, 1630vs, 1615 (sh), 1576s, 1502s, 1460 (sh)	982s	1375m, 1339s, 1266m, 1242m, 1134w, 1069m, 1036w, 921w, 879w, 774w, 748w, 727w
<b>8</b>	3496m, 3340s, 3213s, 3113m, 2936m	1732vs, 1648vs	1622m, 1581vs, 1546vs, 1504m, 1457m, 1397m		1368m, 1345m, 1304s, 1275w, 1247s, 1179m, 1078m, 1015m, 850m, 817m, 806m, 774m
<b>9</b>	3444s, 2920s	1734vs, (2 Ban- den)	1628vs, 1604vs, 1550m, 1530m, 1500m, 1453m	986s	1384w, 1356w, 1277m, 1175w, 1016m, 871w, 766w
$\text{MoO}_2\text{Cl}_2$				958s, 917s	

und einer mittelschwachen Bande bei  $1500\text{ cm}^{-1}$ , die bei den Pterinmolybdän-Komplexen neu auftritt und als Merkmal für die Komplexbildung angesehen wird [26]. Diese Bande bleibt bei den Flavinmolybdän-Komplexen, wenn auch nur mittelstark, erhalten. Die von *Selbin et al.* angegebenen Verschiebungen und Zuordnungen der (C=O)-Banden in den  $\text{Mo}^{\text{IV}}$ -Komplexen können wir aufgrund unserer IR-Daten von **8** und **9** (s. Tab. 8) und nach Vergleich mit Pterin-Komplex **2** nicht bestätigen. Statt der angegebenen Verschiebung der (C(4)=O)-Bande von  $1670\text{ cm}^{-1}$  im Riboflavin-tetraacetat (RTA) auf  $1635\text{ cm}^{-1}$  im entsprechenden Komplex  $[\text{MoOC}_3(\text{H-RTA})]$  verschwindet die tieferliegende (C=O)-Bande sowohl in letzterem als auch in  $[\text{MoOC}_3(\text{H-Riboflavin})]$  (**9**). Dafür erscheint die (C(2)=O)-Bande von  $[\text{MoOC}_3(\text{H-RTA})]$  bei  $1751\text{ cm}^{-1}$  stark verbreitert mit einer Schulter und diejenige von **9** als fast aufgelöste Doppelbande bei  $1734\text{ cm}^{-1}$  (s. Tab. 8). Die Lage der (C(4)=O)-Bande ist damit in guter Übereinstimmung mit derselben im Pterin-Komplex **2**. Auch die Wellenzahl der (Mo=O)-Valenzschwingung von **9** und **2** ist fast identisch.

**5. Schlussfolgerung.** – Es gelang mit dem Mo-Komplex **2** die erste Isolierung und kristallographische Charakterisierung eines biologisch relevanten 1,5-chinoiden 7,8-Dihydro-6H-biopterins, das als wichtige Zwischenstufe vieler Enzym-Reaktionen angesehen wird [3–9]. Die spontane Umkehrung der Bildungsreaktion (s. Gl. 1) unter Einstellung eines  $(\text{Mo}^{\text{IV}}/q\text{-BH}_2)/(\text{Mo}^{\text{VI}}/\text{BH}_4)$ -Gleichgewichtes (s. Gl. 2) ist eine wichtige Reaktion ( $q = 1,5\text{-quinoid}$ ). Die Regenerierung des  $\text{BH}_4$  aus  $q\text{-BH}_2$  wird bei Enzym-Reaktionen im allgemeinen der Dihydropteridin-Reduktase zugeschrieben, die dabei das NADPH als Elektronendonator verwenden soll [3]. Eine Beteiligung des  $(\text{Mo}^{\text{IV}}/q\text{-BH}_2)$ -Systems, das bezüglich der Energiebilanz einen effektiveren Weg zur Regenerierung des  $\text{BH}_4$  darstellt, sollte in diesem Zusammenhang diskutiert werden. Biologische und biochemische Untersuchungen wären in dieser Richtung erforderlich.

Weiterhin ist **2** der erste Modell-Komplex für Molybdän-Enzyme, der ein hydriertes Pterin und das Mo-Atom in einem enzym-relevanten Oxidationszustand enthält. Wir halten es daher für erwiesen, dass ein hydriertes Pterin im Molybdän-Cofaktor bei der Elektronenübertragung eine wichtige Rolle spielt. Dies hatten vor kurzem *Johnson et al.* ebenfalls als denkbare Möglichkeit erkannt [39]. Somit kann eine Erweiterung des von *Rajagopalan et al.* vorgeschlagenen 'common molybdenum cofactor' formuliert werden. Schon 1985 wiesen *Burgmayer et al.* [40] auf ein alternatives Bindungsmodell für den Molybdän-Cofaktor hin. Wie in Fig. 4 zu ersehen, könnte im reduzierten Molybdän-Co-

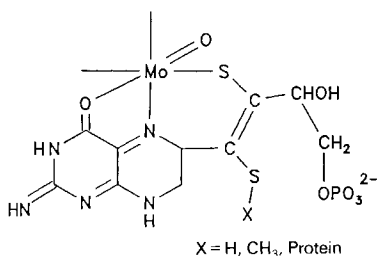


Fig. 4. Vorschlag eines erweiterten Molybdän-Cofaktors in seiner reduzierten Form

faktor, neben der Koordination durch das chinoiden Dihydropterin, ein S-Atom der Seitenkette an das Mo-Atom koordiniert sein. Die Funktion der zweiten Mercapto-Gruppe wäre auch als Anker des Cofaktors an das Protein durch eine Disulfid-Brücke denkbar. Da das exocyclische O-Atom des chinoiden Dihydropterins nur schwach an das Mo<sup>IV</sup> gebunden ist, kann eine Lösung dieser Bindung während der weiteren Enzym-Reaktion, die zu einem Mo<sup>VI</sup>-Komplex führt, in Betracht gezogen werden. Dann wäre eine Koordination des Mo<sup>VI</sup> nur durch das Atom N(5) des Pterin-Gerüsts und die beiden S-Atome der Dimercaptoalken-Gruppe denkbar.

#### Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* Diastereoisomerenreines 6 $\beta$ -5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid (= BH<sub>4</sub>·2 HCl = (1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydropterin-4(3H)-on-dihydrochlorid; 7·2 HCl) wurde freundlicherweise von Dr. Tadashi Kanai, Suntory Inst. for Biochem. Research, Tokyo, Japan, zur Verfügung gestellt. MoO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wurde nach einer modifizierten Vorschrift von Wasmuht [41] hergestellt (MoO<sub>2</sub> in einem Korund-Schiffchen wurde in einem länglichen Glasrohr unter einem gut getrockneten Cl<sub>2</sub>-Strom bei 200° zu gelbem MoO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> umgesetzt). MoCl<sub>4</sub> wurde nach [42] erhalten (Umsetzung von MoCl<sub>5</sub> in Benzol unter Schutzgas zu MoCl<sub>4</sub> und Chlorobenzol). UV-Spektren: UV-2100-Spektrometer der Firma Shimadzu. IR-Spektren: Fourier-Transform-IR-Spektrometer IFS 48 der Firma Bruker, KBr-Presslinge. <sup>13</sup>C-NMR-Spektren: Bruker AC250 (250 MHz); in CD<sub>3</sub>OD oder (D<sub>6</sub>)DMSO;  $\delta$  in ppm bzgl. des jeweils verwendeten Lsgm.

2. *Trichloro(1,5-quinoid-7,8-dihydro-6H-L-biopterin)oxomolybdän(IV)* (= [MoOCl<sub>3</sub> (H-q-BH<sub>2</sub>)]·MeOH = Trichloro[(1'R,2'S,6R)-2-imino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-3,6,7,8-tetrahydropteridin-4(3H)-on-O<sup>4</sup>,N<sup>5</sup>]oxomolybdän(IV); **2**). Zu einer farblosen Lsg. von 252 mg (0,8 mmol) 7·2 HCl in 30 ml MeOH werden unter Schutzgas 160 mg (0,8 mmol) MoO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in 20 ml MeOH gegeben. Die Lsg. wird sofort tiefrot und das gelöste Produkt durch Zugabe von Toluol/Cyclohexan bis zur Trübung und Stehenlassen bei 4° über Nacht ausgefällt. Nach dem Abfiltrieren unter Schutzgas wird i. HV. getrocknet: 382 mg (97,1 %) **2**·MeOH. Die Lsg. sind luft- und feuchtigkeitsempfindlich, der purpurrote Feststoff ist unter N<sub>2</sub> stabil und hydrolysiert sich langsam an der Luft. Kristalle für die Röntgenstrukturanalyse wurden durch Übersichten der MeOH-Lsg. mit Toluol/Cyclohexan bei 4° erhalten. Anal. ber. für C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>3</sub>MoN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>·MeOH (491,5): C 24,40, H 3,66, N 14,24; gef.: C 23,14, H 3,58, N 13,04.

3. *Trichlorooxo(riboflavin-1-ium)molybdän(IV)* (**9**) wurde in Anlehnung an [22] hergestellt. Unter Schutzgas werden 214 mg (0,9 mmol) MoCl<sub>4</sub> in 80 ml MeOH gelöst ( $\rightarrow$  dunkelbraun bis schwarz). Nach Zugabe von 339 mg (0,9 mmol) Riboflavin (**8**) wird die heterogene Mischung 48 h bei RT. gerührt ( $\rightarrow$  tiefrotviolett). Es wird von nichtumgesetztem **8** abfiltriert und wie für **2** beschrieben ausgefällt und getrocknet: 314 mg (58 %) **9**·HCl. Die Lsg. sind luft- und feuchtigkeitsempfindlich, der schwarzviolette Feststoff ist unter N<sub>2</sub> stabil und hydrolysiert sich langsam an der Luft. Anal. ber. für C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>3</sub>MoN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·HCl (632,2): C 32,20, H 3,51, N 7,83; gef.: C 31,10, H 3,86, N 8,86.

4. *Röntgenbeugungsuntersuchungen.* Die Registrierung der Reflexintensitäten erfolgte auf einem automatischen Vierkreisdiffraktometer CAD4 der Firma Enraf-Nonius mit Graphit-Monochromator. Bei den Messungen wurde CuK $\alpha$ -Strahlung verwendet.

Wir danken Herrn Dr. Tadashi Kanai, vom Suntory Inst. for Biochem. Research, Tokyo, Japan, für die Überlassung des diastereoisomerenreinen 6 $\beta$ -BH<sub>4</sub>.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1064.
- [2] M. Viscontini, in 'Pteridines and Biogenic Amines in Neuropsychiatry, Pediatrics and Immunology', Eds. S. A. Levine, S. Milstien, D. M. Kuhn und H.-Ch. Curtius, Lakeshore Publishing Comp. Grosse Pointe, Michigan (USA), 1989, S. 33–50.
- [3] S. Kaufmann, in 'Chem. Biol. Pteridines 1986, Proc. 8th Int. Symp. Pteridines Folic Acid Deriv.: Chem., Biol. Clin. Aspects, 8th. Meeting Date 1986', Eds. B. A. Cooper und V. M. Whitehead, W. de Gruyter, Berlin, 1986, S. 185.
- [4] M. Viscontini, *Fortschr. Chem. Forsch.* **1968**, *9*, 605.
- [5] M. Viscontini, 'Chem. Biol. Pteridines, Proc. Int. Symp., 4th, Meeting Data 1969', Ed. K. Iwai, Int. Acad. Print. Co., Tokyo, 1970, S. 217.
- [6] A. Ehrenberg, P. Hemmerich, F. Mueller, T. A. Okada, M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 411.
- [7] M. Viscontini, H. A. Leidner, G. Mattern, T. A. Okada, *Helv. Chim. Acta* **1966**, *49*, 1911.
- [8] M. Viscontini, T. A. Okada, *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 1845.
- [9] A. Bobst, M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **1966**, *49*, 884.
- [10] 'Molybdenum and Molybdenum-Containing Enzymes', Ed. M. Coughlan, Pergamon Press, Oxford, 1980.
- [11] J. L. Johnson, B. E. Hainline, K. V. Rajagopalan, *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 1783.
- [12] K. V. Rajagopalan, J. L. Johnson, B. E. Hainline, *Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **1982**, *41*, 2608.
- [13] J. L. Johnson, B. E. Hainline, K. V. Rajagopalan, B. H. Arison, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 5414.
- [14] J. L. Johnson, K. V. Rajagopalan, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1982**, *79*, 6856.
- [15] S. P. Cramer, E. I. Stiefel, *Met. Ions Biol.* **1985**, *7*, 411.
- [16] K. B. Jacobson, J. Ferre, J. E. Caton, *Bioorg. Chem.* **1985**, *13*, 296.
- [17] D. J. Vonderschmitt, K. G. Scrimgeour, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, *28*, 302.
- [18] T. Kohzuma, A. Odani, Y. Morita, M. Takani, O. Yamauchi, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 3854.
- [19] J. Lauterwein, P. Hemmerich, J. M. Lhoste, *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 2152.
- [20] D. T. Sawyer, J. N. Gerber, L. W. Amos, L. De Hayes, *J. Less-Common Metals* **1974**, *36*, 487.
- [21] T. D. Wade, Ch. J. Fritchie, *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 2337.
- [22] J. Selbin, J. Sherrill, C. H. Bigger, *Inorg. Chem.* **1974**, *13*, 2544.
- [23] Ch. J. Fritchie, *J. Biol. Chem.* **1972**, *247*, 7459.
- [24] S. J. N. Burgmayer, A. Baruch, K. Kerr, K. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4982.
- [25] S. J. N. Burgmayer, E. I. Stiefel, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 8310.
- [26] S. J. N. Burgmayer, E. I. Stiefel, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 4059.
- [27] T. Kohzuma, H. Masuda, O. Yamauchi, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3431.
- [28] N. Walker, D. Stuart, *Acta Crystallogr., Sect. A* **1983**, *39*, 158.
- [29] G. M. Sheldrick, 'SHELXS 86, Fortran-Programm für Kristallstrukturbestimmungen', Göttingen, 1986.
- [30] B. A. Frenz, Fa. *Enraf-Nonius*, 'The Enraf-Nonius CAD4-SDP: a Real-Time System for Concurrent X-Ray Data Collection and Crystal Structure Determination, SDP-PLUS Version 1.1', in 'Computing in Crystallography', Eds. H. Schenk, R. Olthof-Hazekamp, H. von Koningsveld und G. C. Bassi, Delft University Press, 1984.
- [31] E. Keller, 'Schakal '86', Kristallographisches Institut, Freiburg, 1986.
- [32] K. Yamanouchi, J. T. Huneke, J. H. Enemark, R. D. Taylor, J. T. Spence, *Acta Crystallogr., Sect. B* **1979**, *35*, 2326.
- [33] M. M. El-Essawi, F. Weller, K. Stahl, M. Kersting, K. Dehnicke, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1986**, *542*, 175.
- [34] J. B. Noar, U. V. Venkataram, T. C. Bruice, G. Bollag, R. Whittle, D. Sammons, R. Henry, S. J. Benkovic, *Bioorg. Chem.* **1986**, *14*, 17.
- [35] J. H. Bieri, M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **1977**, *60*, 1926.
- [36] W. Pfeleiderer, 'Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines', Eds. W. Pfeleiderer, H. Wachter und H. Ch. Curtius, W. D. Gruyter Verlag, Berlin–New York, 1987, Vol. 5, S. 3.
- [37] A. B. P. Lever, 'Inorganic Electronic Spectroscopy', 'Physical Inorganic Chemistry, Monograph I', Ed. M. F. Lappert, Elsevier, Amsterdam–London–New York, 1968.
- [38] W. Voelter, G. Jung, E. Breitmaier, R. Price, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1971**, *352*, 1034.
- [39] J. L. Johnson, B. E. Hainline, K. V. Rajagopalan, 'Chem. Biol. Pteridines, Proc. Int. Symp. Pteridines Folic Acid Deriv.: Chem., Biol. Clin. Aspects 9th', Zürich, Switzerland 3, 3–8 September 1989, Eds. H.-Ch. Curtius, S. Ghisla und N. Blau, de Gruyter, Berlin, 1990, S. 255.
- [40] S. J. N. Burgmayer, E. I. Stiefel, *J. Chem. Educ.* **1985**, *62*, 943.
- [41] R. Wasmuht, *Z. Angew. Chem.* **1930**, *43*, 101.
- [42] G. Brauer, 'Handbuch der präparativen anorganischen Chemie', 3. Aufl., 1978, Band III, S. 1533.