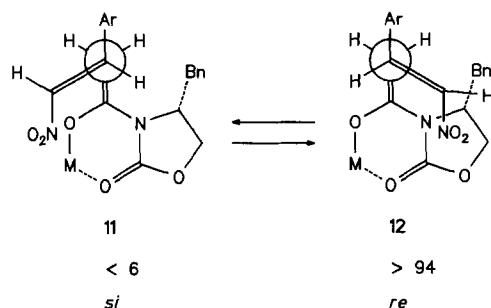
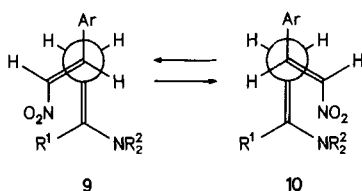


diastereomerenrein^[6]. Die Umwandlung von **7** in (*R*)-**1c** gelingt in einer Stufe durch katalytische Hydrierung^[7], über die nicht isolierten Zwischenverbindungen **2b** und (*R*)-**1b**. Mit Cyclopentylbromid wird **1c** zu **1a** alkyliert. Da das Enantiomer von **8** ebenfalls zugänglich ist, steht auch der Weg in die (*S*)-Serie offen.

Der stereochemische Ablauf der Addition von **4** an **3** folgt dem schon früher von Seebach et al. für die Addition von Enaminen an Nitrostyrole formulierten Modell^[8], das sich auf folgende Annahmen stützt: 1. Die formalen Doppelbindungen sind wie in **9/10**, *syn* angeordnet. 2. Donor- (NR₂) und Acceptorfunktion (NO₂) stehen möglichst nahe beieinander, was zu einer Bevorzugung der reaktiven Zwischenstufe **10** gegenüber **9** führt. Unser Beispiel weicht vom Seebach-Modell weitgehend ab, da anstelle eines Enamins ein chirales, metalliertes O,N-Acetal^[9] **4** verwendet wird, dessen Aminofunktion als Teil einer Imid-Einheit ein schwächerer Donor ist. Von den zur Auswahl stehenden reaktiven Zwischenstufen **11** und **12** scheint jedoch, in Analogie zu Seebachs Befunden, **12** stark begünstigt. Offensichtlich ist für



die simple Diastereoselektivität der Addition weniger die Donorwirkung des Enamin-Stickstoffatoms als vielmehr dessen *syn*-Anordnung zur Nitroolefin-Einheit verantwortlich. Eine pericyclische Verschiebung des Metallkations zur Nitrogruppe, analog zum Zimmerman-Traxler-Mechanismus der Aldoladdition^[10] scheint im vorliegenden Fall wegen der ungünstigen Ringgröße (Achtring) keine Rolle zu spielen. Die hohe Stereoselektivität bei der Bildung von **7** ist auch insofern bemerkenswert, als Enolate vom Typ **4**, die am C-Atom keine Substituenten tragen, z.B. bei Aldoladditionen^[11] nicht stereoselektiv reagieren.

Eingegangen am 1. Februar 1992 [Z 5165]

- [1] H. H. Schneider, R. Schmiechen, M. Brenzinski, J. Seidler, *Eur. Pharmacol.* **1986**, *127*, 105–115.
- [2] J. Crossland, *Drugs of the future* **1988**, *13*, 38–41.
- [3] Evans-Oxazolidinone wurden erst nach Abschluß unserer Arbeiten für Michael-Additionen eingesetzt, allerdings mit völlig anderen Substitutionsmustern: D. A. Evans, M. T. Bilodeau, T. C. Somers, J. Clardy, D. Cherry, Y. Kato, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5750–5752.
- [4] C. Schöpf, L. Winterhalder, *Liebigs. Ann. Chem.* **1940**, *544*, 62–71.
- [5] **8** wurde entsprechend der Literaturvorschrift für *N*-Acyl-Oxazolidinone hergestellt: D. A. Evans, A. E. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6757–6761.

- [6] Analytische Daten von (4*S*, 3'*R*)-3-[3-(3-Benzyloxy-4-methoxyphenyl)-4-nitrobutyl]-4-benzyl-2-oxazolidinon **7**: Fp = 153 °C; [α]_D²⁰ = –28.05 (c = 2.3 in Chloroform); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ = 2.72 (dd, *J*_{vic} = 9 Hz, *J*_{gem} = 13.5 Hz, 1H; -CHHPh), 3.22 (dd, *J*_{vic} = 3.8 Hz, *J*_{gem} = 13.5 Hz, 1H; -CHHPh), 3.27 (dd, *J*_{vic} = 6.3 Hz, *J*_{gem} = 17.5 Hz, 1H; H 2'), 3.47 (dd, *J*_{vic} = 7.5 Hz, *J*_{gem} = 17.5 Hz, 1H; H 2'), 3.82 (s, 3H; -OCH₃), 3.95–4.10 (m, 1H; H 3'), 4.06–4.14 (m, 2H; H 5), 4.45–4.59 (m, 1H; H 4), 4.53 (dd, *J*_{vic} = 7.9 Hz, *J*_{gem} = 13 Hz, 1H; H 4'), 4.65 (dd, *J*_{vic} = 7.5 Hz, *J*_{gem} = 13 Hz, 1H; H 4'), 5.16 (s, 2H; -OCH₂Ph), 6.80–6.88 (m, 3H; Aren-H), 7.14–7.50 (m, 10H; Aren-H); ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 37.70, 38.64, 39.13 (-CH₂Ph, C 2' und C 3'), 55.00, 55.94 (C 4 und -OCH₃), 66.31 (C-5), 71.23 (-OCH₂Ph), 79.60 (C 4'), 112.20, 113.90, 120.40, 127.35, 127.50, 127.84, 128.47, 128.90, 129.28, 130.80, 134.96, 136.83, 148.31, 149.46 (Aren-C), 153.30 (C 1'), 170.04 (C 2). IR (KBr): ν̄ [cm⁻¹] = 1785vs, 1700s, 1550s; MS (80 eV): *m/z* 504 (2%, M⁺), 457 (3), 281 (3), 238 (4), 91 (100, C₇H₇⁺), 65 (5).
- [7] Analytische Daten von (4*S*)-4-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-2-pyrrolidinon **1c**: Fp = 126 °C; [α]_D²⁰ = –36.7 (c = 1.8 in Chloroform); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ = 2.47 (dd, *J*_{vic} = 9.4 Hz, *J*_{gem} = 16.5 Hz, 1H; -CHHCO), 2.70 (dd, *J*_{vic} = 8.4 Hz, *J*_{gem} = 16.5 Hz, 1H; -CHHCO), 3.39 (dd, *J*_{vic} = 7.5 Hz, *J*_{gem} = 8.5 Hz, 1H; -CHHCO), 3.61 (quint, *J* = 8.5 Hz, 1H; H 4), 3.72 (dd, *J*_{vic} = *J*_{gem} = 8.5 Hz, 1H; -CHHCO), 3.89 (s, 3H; -OCH₃), 5.94 (s, 1H; -NH), 6.38 (s, 1H; -PhOH), 6.69–6.86 (m, 3H; Aren-H); ¹³C-NMR (63 MHz, DMSO, 25 °C): δ = 37.93 (C 5), 40.49 (C 4), 48.80 (C 3), 55.71 (-OCH₃), 112.39, 114.12, 117.27, 135.60, 146.34, 146.54 (Aren-C), 176.02 (-CO); IR (KBr): ν̄ [cm⁻¹] = 3260br m, 1685vs, 1520s, 1445m, 1295m, 1280m, 1240m, 1055m, 1030m. MS (80 eV): *m/z* 207 (55%, M⁺), 150 (100), 135 (40).
- [8] D. Seebach, J. Golinski, *Helv. Chim. Acta* **1981**, *65*, 1413–1423; S. J. Blarer, W. B. Schweizer, D. Seebach, *ibid.* **1982**, *65*, 1637–1654.
- [9] D. A. Evans in *Asymmetric Synthesis Vol. 3* (Hrsg.: J. Morrison), Academic Press, New York, **1984**, S.1.
- [10] H. E. Zimmerman, M. D. Traxler, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *79*, 1920–1923.
- [11] D. A. Evans, J. Bartoli, T. L. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127–2129; D. A. Evans, E. B. Sjogren, J. Bartoli, R. L. Dow, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4957–4960; D. A. Evans, J. S. Clark, R. Metternich, V. J. Novak, G. S. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 866–868.

Tetramethyl-*ortho*-chinodimethan (NOCT-1), das erste Mitglied einer Familie maßgeschneiderter cheletroper Spinfänger für Stickstoffmonoxid**

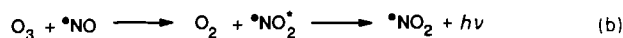
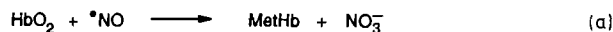
Von Hans-Gert Korth*, Keith U. Ingold*, Reiner Sustmann, Herbert de Groot und Helmut Sies

Stickstoffmonoxid 'NO wurde kürzlich als ein wichtiges physiologisches Stoffwechselprodukt erkannt: Es fungiert als intra- und interzelluläres Signalmolekül, ist an der Regulation des Blutdruckes beteiligt, wirkt als Botenstoff im Zentralnervensystem und vermittelt die Cytotoxizität von Makrophagen (für Übersichten siehe Lit.^[1–4]). Selbst wenn 'NO nicht identisch mit dem „Endothelium Derived Relaxing Factor“ (EDRF)^[5] sein sollte, ist es sicherlich das vom EDRF freigesetzte aktive Agens. Des weiteren spielt Stickstoffmonoxid eine wichtige Rolle bei der durch photochemische und Verbrennungsprozesse hervorgerufenen Luftverschmutzung. Wegen der Bedeutung von 'NO sind recht

- [*] Dr. H.-G. Korth, Prof. Dr. R. Sustmann
Institut für Organische Chemie der Universität-Gesamthochschule
Universitätsstraße 5, W-4300 Essen 1
Prof. Dr. K. U. Ingold
Steacie Institute for Molecular Sciences
National Research Council of Canada
Ottawa, Ontario K1A0R6 (Kanada)
Priv.-Doz. Dr. H. de Groot, Prof. Dr. H. Sies
Institut für Physiologische Chemie I der Universität Düsseldorf

[**] Herausgegeben unter der NRCC No. 33282. Wir danken Dr. J. C. Scaliano (Ottawa) für eine Probe von **3**, die uns das Einstiegsperiment ermöglichte, Prof. A. L. J. Beckwith (Canberra) für eine Probe von TMIO und Frau L. Hughes, Frau P. Lommes sowie J.-F. Wang für wertvolle experimentelle Mithilfe. K. U. I. dankt der Alexander-von-Humboldt-Stiftung für einen Forschungspreis, der ihm den Anreiz und die Muße gab, darüber nachzudenken, wie Stickstoffmonoxid in biologischen Systemen nachzuweisen sei.

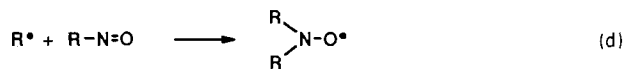
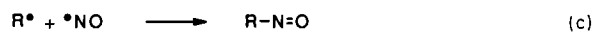
empfindliche Methoden zu seinem Nachweis und zu seiner Quantifizierung entwickelt worden^[4]. Diese nutzen z.B. die spektrophotometrisch meßbare, $\cdot\text{NO}$ -induzierte Umwandlung von Oxyhämoglobin (HbO_2) in Methämoglobin (MetHb) [Gl. (a)], seine gefäßerweiternde Wirkung auf Arteriensegmente und die Chemilumineszenz seiner Gasphasenreaktion mit Ozon [Gl. (b)].



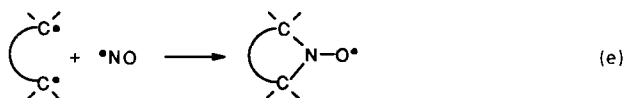
Trotz aller Bemühungen gibt es jedoch bis jetzt noch keine Methode, die – zumindest prinzipiell – geeignet wäre, die $\cdot\text{NO}$ -Bildung kontinuierlich *zeitlich und räumlich* in Zellkulturen, perfundierten Organen und lebenden Organismen zu verfolgen. Am attraktivsten für diesen Zweck wäre eine Reaktion, durch die $\cdot\text{NO}$ (selbst ein persistentes Radikal) in ein persistentes Nitroxid-Radikal überführt würde. Letzteres könnte ESR-spektroskopisch nachgewiesen, quantitativ bestimmt und in seiner Raum-Zeit-Verteilung abgebildet werden („ESR-Imaging“).

Konventionelle Nitrone und Nitrosoverbindungen sind als Spinfänger für $\cdot\text{NO}$ ungeeignet^[6]. Dies ist angesichts der geringen Reaktivität von $\cdot\text{NO}$ gegenüber Molekülen im elektronischen (Singulett-)Grundzustand nicht verwunderlich.

Es ist wohl bekannt, daß $\cdot\text{NO}$ mit kohlenstoffzentrierten Radikalen schnell zu Nitrosoverbindungen reagiert^[8] [Gl. (c)] und daß letztere gute Abfangreagentien für kohlenstoffzentrierte Radikale sind^[9] [Gl. (d)].



Man könnte sich daher vorstellen, daß ein als Cheletrop reagierendes Diradikal ein effektiver Fänger für $\cdot\text{NO}$ sein sollte, und in der Tat sind Diradikale mit $\cdot\text{NO}$ bereits unter Bildung cyclischer Nitroxid-Radikale abgefangen worden^[10] [Gl. (e)]. Diradikale, die eine für den $\cdot\text{NO}$ -Abfang geeignete Struktur aufweisen, sind jedoch inhärent kurzlebige Spezies mit Lebenszeiten von allgemein $< 1 \mu\text{s}$ ^[11]. Zudem reagieren sie sehr schnell mit Sauerstoff^[11, 12].

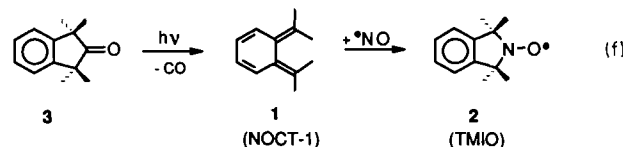


Es wird folglich ein zweifach kohlenstoffzentriertes „Diradikal-Äquivalent“ benötigt. Dieses Äquivalent muß schnell und vollständig mit $\cdot\text{NO}$ ein persistentes cyclisches Dialkylnitroxid bilden, darf aber nicht mit merkbarer Geschwindigkeit mit Sauerstoff reagieren. Weiterhin sollte das Diradikal-Äquivalent eine einfach aufzubauende Grundstruktur haben, so daß gezielt Varianten synthetisiert werden können, die beispielsweise wasser- oder lipidlöslich sind, Zellmembranen durchdringen können oder von ihnen zurückgehalten werden oder auf der Oberfläche oder in der Zellmembran verankert werden können. Derartige Abfang-

reagentien würden ein detailliertes räumliches und zeitliches ESR-Imaging von $\cdot\text{NO}$ unter physiologischen Bedingungen ermöglichen.

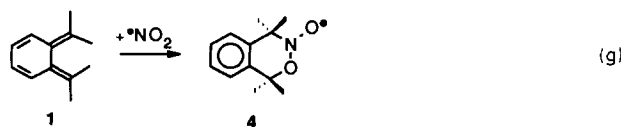
1,2-Bis(isopropyliden)cyclohexa-3,5-dien (=7,7,8,8-Tetramethyl-*ortho*-chinodimethan) **1** schien den genannten Anforderungen zu genügen. In der Tat hat diese Verbindung unsere Hoffnungen auf einen maßgeschneiderten cheletropen Spinfänger für $\cdot\text{NO}$ erfüllt: Sie reagiert wirkungsvoll mit $\cdot\text{NO}$ zum erwarteten 1,1,3,3-Tetramethylisindolin-2-oxyl-Radikal (TMIO) **2**. Wir haben **1** deshalb NOCT-1 (Nitric Oxide Cheletropic Trap 1) genannt. Das aus **1** und $\cdot\text{NO}$ gebildete Nitroxid **2** ist für quantitative ESR-Messungen sehr geeignet, denn es ist bei Raumtemperatur vollkommen stabil und kann sogar in reiner Form isoliert werden^[13].

1 wurde durch Photodecarbonylierung von 1,1,3,3-Tetramethyl-2-indanon **3** in Pentan, Hexan oder Acetonitril erzeugt^[14] [Gl. (f)]. Es ist eine recht kurzlebige Zwischenstufe



(Halbwertszeit bei 20 °C ca. 9 min^[15]) und wurde deshalb nicht aus der Reaktionslösung isoliert^[16]. Glücklicherweise erwies sich dies bei den Folgeuntersuchungen auch als nicht notwendig, da sich das Ausgangsketon **3** und das Hauptendprodukt der Photolyse, *o*-Isopropyl- α -methylstyrol, inert gegenüber $\cdot\text{NO}$ verhalten.

Nach dem Mischen einer kalten, verdünnten (ca. 10^{-3} M) und sauerstofffreien Lösung von **1** in einem organischen Lösungsmittel mit verdünnten (10^{-2} – 4×10^{-5} M) Lösungen von $\cdot\text{NO}$ (im gleichen Lösungsmittel) wurden „augenblicklich“ (d. h. nach der bis zur Aufnahme benötigten Zeit von ca. 1 min) die charakteristischen Drei-Linien-ESR-Spektren zweier unterschiedlicher Nitroxid-Radikale beobachtet. Ein Vergleich mit dem ESR-Spektrum von reinem **2**^[13] bewies, daß es sich bei dem einem Radikal tatsächlich um **2** handelte, denn das zugehörige Signal wies in den verschiedenen Lösungsmitteln exakt die gleichen Stickstoff-Hyperfeinaufspaltungen und *g*-Werte auf [z.B. $a_N = 1.452(3)$ mT, $a_{13C} = 0.630(5)$ mT (4^{13}C), $g = 2.00589(1)$ in Acetonitril, 14 °C]. $\cdot\text{NO}$ ist folglich entsprechend Gleichung (f) abgefangen worden^[17]. Das zweite Nitroxid-ESR-Signal zeigte die charakteristischen spektroskopischen Merkmale [$a_N = 2.712(5)$ mT, $a_{13C} = 0.77(1)$ mT (1^{13}C), $g = 2.00565(1)$] eines Alkoxy-nitroxids. Wir ordnen dieses Spektrum vorläufig dem Nitroxid-Radikal **4** zu, was bedeutet, daß $\cdot\text{NO}_2$ ^[18] ebenfalls von **1** abgefangen wurde [Gl. (g)].



Als nächstes setzten wir **1** zur Verfolgung der $\cdot\text{NO}$ -Bildung in einer Kultur von Leber-Makrophagen, den *Kupffer-Zellen*, ein. Die Kupffer-Zellen wurden wie beschrieben^[19, 20] durch Collagenase-Perfusion der Leber von weiblichen Wistar-Ratten isoliert. In einer ersten Serie von Experimenten wurden ca. 1.5×10^{-7} Mol **1** in 0.2 mL CH_3CN direkt in die über den Kupffer-Zellen stehende Pufferlösung gegeben^[21]. Nach unterschiedlich langer (5–60 min) Inkubation bei

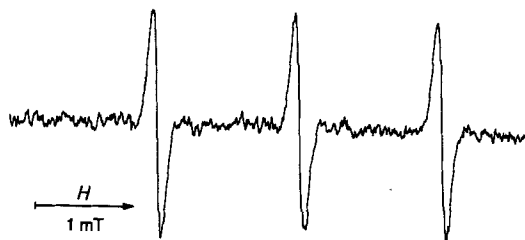


Abb. 1. ESR-Spektrum (9.4 GHz, *n*-Hexan, 14 °C) von **2**, aufgenommen nach 30 min Inkubation von Kupfer-Zellen in Gegenwart von **1**.

37 °C wurde das Medium mit 0.8 mL *n*-Hexan extrahiert, die organische Phase in ein Quarz-ESR-Rohr übergeführt und gelöster Sauerstoff durch Spülen mit Argon entfernt. Alle Lösungen lieferten die ESR-Signale von **2** (Abb. 1)^[22]. Trotz der relativ unvorteilhaften, aus der kurzen Lebensdauer und der geringen Löslichkeit von **1** in Wasser resultierenden Bedingungen bei diesen Experimenten zeigt allein die Tatsache des einfachen Nachweises von **2**, daß wir es mit einem sehr effektiven und schnell reagierenden cheletropen Fänger für [•]NO zu tun haben. Nach 30 min Inkubationszeit^[22] betrug die Gesamtmenge des Nitroxids **2** in *n*-Hexan ca. 0.025 nmol^[23]. Mit der bekannten [•]NO-Bildungsgeschwindigkeit unter diesen Bedingungen (ca. 0.40 nmol pro Kulturrohrchen in 30 min)^[21] folgt, daß wir ca. 6% des erzeugten Stickstoffmonoxids abgefangen haben^[24].

In einer zweiten Serie von Experimenten wurde die gleiche Menge **1** zu ca. 1 mL *n*-Hexan gegeben, die wäßrige Zellkulturlösung damit überschichtet und die Zellen über die gleichen Zeiträume inkubiert. Trotz der Tatsache, daß gebildetes [•]NO nun durch die wäßrige Phase (ca. 2 mm) diffundieren mußte, um **1** in der Hexanphase zu erreichen, erhielten wir die ESR-Signale von **2**, wenn auch erheblich schwächer als in der ersten Versuchsserie.

Wegen seiner spezifischen physikalischen und chemischen Eigenschaften ist NOCT-1 **1** sicherlich noch kein praktisches Reagens zur Verfolgung der [•]NO-Bildung in biologischen Systemen. Unsere Absicht war jedoch nur zu zeigen, daß [•]NO durch **1** abgefangen wird und daß mit **1** somit eine vielversprechende Grundlage für die Entwicklung einer Familie strukturell verwandter NOCTs geschaffen ist. Man kann mit gutem Grund annehmen, daß ein wasserlösliches und längerlebiger NOCT geeigneter für das Abfangen von [•]NO unter Zellkulturbedingungen sein wird. Entsprechende Modifikationen von **1** werden gegenwärtig synthetisiert und untersucht.

Es ist wichtig festzuhalten, daß [•]NO von **1** in diesen Zellkulturexperimenten abgefangen wird und man charakteristische ESR-Spektren erhält, obwohl (notwendigerweise) Sauerstoff anwesend ist. Kinetikmessungen belegen, daß die Lebensdauer von **1** nicht durch molekularen Sauerstoff, die Lösungsmittelpolarität oder den pH-Wert beeinflusst wird^[25]. Selbst wenn **1** mit O₂^{•-}, HO[•] oder einer anderen Form von „aktivem Sauerstoff“ reagieren sollte, wäre(n) das (die) Produkt(e) ESR-inaktiv. Die einzigen Ausnahmen von dieser Regel sind [•]NO und [•]NO₂.

Eingegangen am 17. Januar 1992 [Z 5127]

CAS-Registry-Nummern:
1, 66042-30-6; **2**, 10102-43-9.

- [1] R. F. Furchgott, P. M. Vanhoutte, *FASEB. J.* **1989**, *3*, 2007–2018.
- [2] S. Moncada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs, *Biochem. Pharmacol.* **1989**, *38*, 1709–1715.
- [3] L. J. Ignarro, *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *41*, 485–490.
- [4] E. Noack, M. E. Murphy in *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants* (Hrsg.: H. Sies), Academic Press, New York, **1991**, S. 445–489.

- [5] Für eine Zusammenstellung der Hinweise darauf, daß [•]NO der EDRF ist, siehe [4]. Für Hinweise, daß auch NO⁻ eine physiologisch wichtige Form des EDRF ist, siehe M. E. Murphy, H. Sies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10860–10864. Für eine Zusammenfassung der Argumente, daß [•]NO nicht der EDRF sein sollte, siehe S. S. Greenberg, D. E. Wilcox, G. M. Rubanyi, *Circ. Res.* **1990**, *67*, 1446–1455; A. F. Varin, *FEBS Lett.* **1991**, *289*, 1–34.
- [6] C. M. Arroyo, M. Kohno, *Free Radical Res. Commun.* **1991**, *14*, 145–155. In dieser Arbeit wird zwar über die Bildung eines Addukt-Radikals aus ¹⁵NO und (CH₃)₃CNO, d.h. (CH₃)₃CN(O)¹⁵NO, berichtet, doch sollte angemerkt werden, daß solche Radikale unbekannt sind [7]. Um das erhaltene komplexe ESR-Spektrum erklären zu können, nahmen Arroyo und Kohno zwei verschiedene Formen des Addukt-Radikals mit unterschiedlichen Stickstoff-Hyperfeinaufspaltungen an! Dies kann nicht richtig sein, da die beiden angegebenen Formen Resonanzstrukturen sind. Es scheint, daß die Reaktion [•]NO + (CH₃)₃CNO insgesamt recht komplex ist.
- [7] A. R. Forrester, *Landolt-Börnstein, New Series, Magnetic Properties of Free Radicals*, Vol. 9, Part c1, Vol. 17, Part d1, d2 (Hrsg.: H. Fischer, K. H. Hellwege), Springer, Berlin, **1979**, **1989**.
- [8] Y. Rees, G. H. Williams, *Adv. Free-Radical Chem.* **1969**, *3*, 199–230; M. Györ, A. Rockenbauer, F. Tüdös, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3759; A. Rockenbauer, M. Györ, F. Tüdös, *ibid.* **1986**, *27*, 3363, 3421, 3425, 4795.
- [9] Übersichten: M. J. Perkins, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1980**, *17*, 1–64; E. G. Janzen, L. D. Haire in *Advances in Free Radical Chemistry*, Vol. 1 (Hrsg.: D. D. Tanner), Jai Press, Greenwich, CT, USA, **1990**; G. M. Rosen, E. Finkelstein, *Adv. Free Radical Biol. Med.* **1985**, *1*, 345–375.
- [10] P. Maruthamuthu, J. C. Scaiano, *J. Phys. Chem.* **1978**, *82*, 1588–1590.
- [11] J. C. Scaiano, E. A. Lissi, M. V. Encina, *Rev. Chem. Intermed.* **1978**, *2*, 139–196; J. C. Scaiano, *Acc. Chem. Res.* **1982**, *15*, 252–258.
- [12] W. Adam, S. Grabowski, W. R. Marshall, *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 165–172.
- [13] P. G. Griffiths, G. Moad, E. Rizzardo, D. H. Solomon, *Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 397–401.
- [14] J. E. Starr, R. H. Eastman, *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1393–1402.
- [15] V. Wintgens, J. C. Netto-Ferreira, H. Casal, J. C. Scaiano, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2363–2367; K. K. de Fonseca, J. J. McCullough, A. J. Yarwood, *ibid.* **1979**, *101*, 3277–3282.
- [16] **1** wurde bei tiefer Temperatur (–40 °C) durch ¹H-NMR-Spektroskopie (300 MHz, CD₃CN, TMS) anhand der Signale der olefinischen Protonen bei δ = 6.00 (dd, *J* = 7.8, 3.2 Hz) und 6.85 (dd, *J* = 7.8, 3.2 Hz) identifiziert. Diese Signale verschwanden bei Raumtemperatur in Übereinstimmung mit der berichteten^[15] Lebensdauer. Nach 1 h Bestrahlung einer 5.3 × 10^{–2} M Lösung von **3** in CD₃CN betrug die Konzentration an **1** ca. 7 × 10^{–4} mol L^{–1}, die Konzentration an *o*-Isopropyl- α -methylstyrol 1.0 × 10^{–2} mol L^{–1}.
- [17] Weitere Hinweise darauf, daß **1** der aktive Fänger ist, lieferten Experimente, bei denen [•]NO-Lösungen zu Lösungen von **1** gegeben wurden, die unterschiedlich lange (1–60 min) bei Raumtemperatur aufbewahrt worden waren. Die Intensität der ESR-Signale nahm entsprechend der Lebensdauer^[15] von **1** mit steigender Aufbewahrungszeit ab.
- [18] Die Bildung von [•]NO₂ in diesen Lösungen durch Reaktion mit Spuren von Sauerstoff und/oder Disproportionierung kann nicht ausgeschlossen werden. [•]NO₂ könnte auch durch Reaktion von [•]NO mit **2** entstehen. Zusätzliche Experimente zeigten, daß **2** mit überschüssigem [•]NO oder [•]NO₂ reagiert, jedoch ist ein großer Überschuß an diesen Verbindungen zur Unterdrückung der ESR-Signale notwendig. Im Gegensatz dazu verringert [•]NO oder [•]NO₂ die ESR-Signalintensität des Nitroxids **4** sehr leicht.
- [19] B. Rymsa, H. D. Becker, W. Lauchart, H. de Groot, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **1990**, *68*, 263–266.
- [20] J.-F. Wang, P. Komarov, H. Sies, H. de Groot, *Biochem. J.* **1991**, *279*, 311–314.
- [21] Die Kupfer-Zellen wurden bei 37 °C in Kulturrohrchen (5.5 cm², Nunc) in RPMI-1640-Medium, versetzt mit 20% (v/v) wärmedesaktiviertem, fötalem Kälberserum, in einer feuchten CO₂/Luft(1/19)-Atmosphäre kultiviert. Nach 30 h wurden die Zellen 18 h lang mit Lipopolysacchariden (10 mg mL^{–1}), Hanks Salzlösung (pH 7.4), 10 mM Glucose und 20 mM Hepes vorbehandelt. Vor der Inkubation bei 37 °C wurde 1 mM L-Arginin zugegeben. Jedes Kulturrohrchen enthielt ca. 7 × 10⁴ Kupfer-Zellen, die unter diesen Bedingungen [•]NO mit einer Geschwindigkeit von 11.6 nmol h^{–1} (10⁶ Zellen)^{–1} freisetzen.
- [22] Die Intensität der ESR-Signale nahm bei Inkubationszeiten > 30 min wieder ab, möglicherweise durch die Reaktion von **2** mit überschüssigem [•]NO^[18].
- [23] Bestimmt durch Doppelintegration des ESR-Spektrums und Vergleich mit einem kalibrierten Spindstandard.
- [24] Eine Verminderung der ESR-Signalintensität durch Reaktion von **2** mit überschüssigem **1** kann aufgrund von Vergleichsexperimenten, bei denen unterschiedliche Mengen an **1** zu Lösungen von reinem **2** gegeben wurden, ausgeschlossen werden. Wird vor der Inkubation statt L-Arginin N[•]-Nitro-L-arginin zugesetzt, so inhibiert das die Bildung von [•]NO durch die Kupfer-Zellen^[20]. In Übereinstimmung damit wurden in Parallel-experimenten, bei denen vor der Zugabe von 1.0 mM N[•]-Nitro-L-arginin zugegeben wurde, keine ESR-Signale beobachtet.
- [25] R. R. Milburn, Ottawa, unveröffentlichte Ergebnisse.