

Infrarotspektroskopische Untersuchungen an Desoxyribonukleinsäuren, ihren Derivaten und Analoga. VIII. Ermittlung der nichtebenen NH-Deformationsschwingungen

Die komplementäre Basenpaarung über H-Brücken¹ spielt in der DNS eine entscheidende Rolle für die Erhaltung und Weitergabe der genetischen Informationen. Protonendonorggruppe ist bei der komplementären Basenpaarung immer eine NH-Gruppe, so dass eine Zuordnung von Schwingungen dieser Gruppe zu IR-Absorptionsmaxima wichtig erscheint. In einer früheren Mitteilung² wurde bereits über die Gestalt der NH-Valenzschwingungsbande bei Modellsystemen für die Basenpaarung der DNS und deren Beeinflussung durch Abkühlen auf 120°K berichtet. Zur Ermittlung der nichtebenen Deformationsschwingungen der NH-Gruppe (γ_{NH}) und der Kippschwingungen der NH_2 -Gruppe (ω_{NH_2}) an einer Reihe von Modellsystemen wurden drei Methoden verwendet: a) N-Deuterierung der Probe, b) Messung der «Kälteverschiebung» (Verschiebung der Deformationsschwingungen zu grösseren Wellenzahlen durch Verfestigung der H-Brücken beim Abkühlen von 300°K auf 100–120°K)^{3,4}, c) Verschiebung durch Ausbildung komplementärer Basenpaare^{2,4,5}. Als Beispiele für die «Kälteverschiebung» der nichtebenen NH-Deformationsschwingung sind in der Figur die IR-Spektren von Benzimidazol (a) und Purin (b) wiedergegeben. Eine Übersicht über die zugeordneten NH-Deformationsschwingungen der untersuchten Verbindungen gibt die Tabelle. Zum Vergleich sind auch die von KANASKOVA et al.³ ermittelten Schwingungen des Adenins aufgeführt. Die nichtebenen Deformationsschwingungen γ_{NH} der untersuchten Heterocyklen liegen somit zwischen 860 und 905 cm^{-1} ; die «Kälteverschiebung» $\Delta\nu_k$ ist stets grösser als 10 cm^{-1} und erlaubt eine eindeutige Zuordnung dieser IR-Banden. Die NH_2 -Kippschwingungen ω_{NH_2} der Adenin- und Guaninderivate konnten zwischen 580 und 665 cm^{-1} lokalisiert werden. Bei N-Deuterierung des Benzimidazols konnte bei 1288 cm^{-1} eine breite und temperaturempfind-

liche IR-Bande beobachtet werden, die der Oberschwingung $2\gamma_{\text{ND}}$ zugeordnet werden kann. Die γ_{ND} müsste dann bei etwa 645 cm^{-1} liegen (Absorptionsbereich des atmosphärischen CO_2); der Isotopiefaktor $\gamma_{\text{NH}}/\gamma_{\text{ND}} = 881:645 = 1,37$ hat den erwarteten Wert. KYOGOKU et al.⁵ fanden Isotopiefaktoren von 1,36 bzw. 1,38 für die γ_{NH} des 1-Methylthymins bzw. des 1-Methyluracils. Interessanterweise bleibt 8-Azasubstitution im Adeninring ohne signifikanten Einfluss auf die Lage der γ_{NH} im 8-Azaadenin.

In den als Basenpaarungsmodelle verwendeten 1:1-Mischkristallen aus 9-Methyladenin und 1-Methylthymin (A-T-Modell)^{2,5} und aus 9-Äthylguanin und 1-Methylcytosin (G-C-Modell)⁵ sind die NH- bzw. NH_2 -Gruppen der Purin- und Pyrimidinderivate an der komplementären Basenpaarung beteiligt. Die Kraftkonstanten der Schwingungen dieser Gruppen werden durch diese intermolekularen H-Brücken modifiziert. Die ω_{NH_2} des 9-Methyladenins verschiebt sich von 690 cm^{-1} im reinen Kristall zu 615 cm^{-1} im Mischkristall des AT-Modells, die γ_{NH} des 1-Methylthymins von 882 cm^{-1} zu 917 cm^{-1} (cf. Ref. ⁵). Ähnlich verschiebt sich die γ_{NH} des Äthylguanins von 860 cm^{-1} im reinen Kristall zu 890 cm^{-1} im Mischkristall des G-C-Modells (cf. Fig. 1 im Ref. ²).

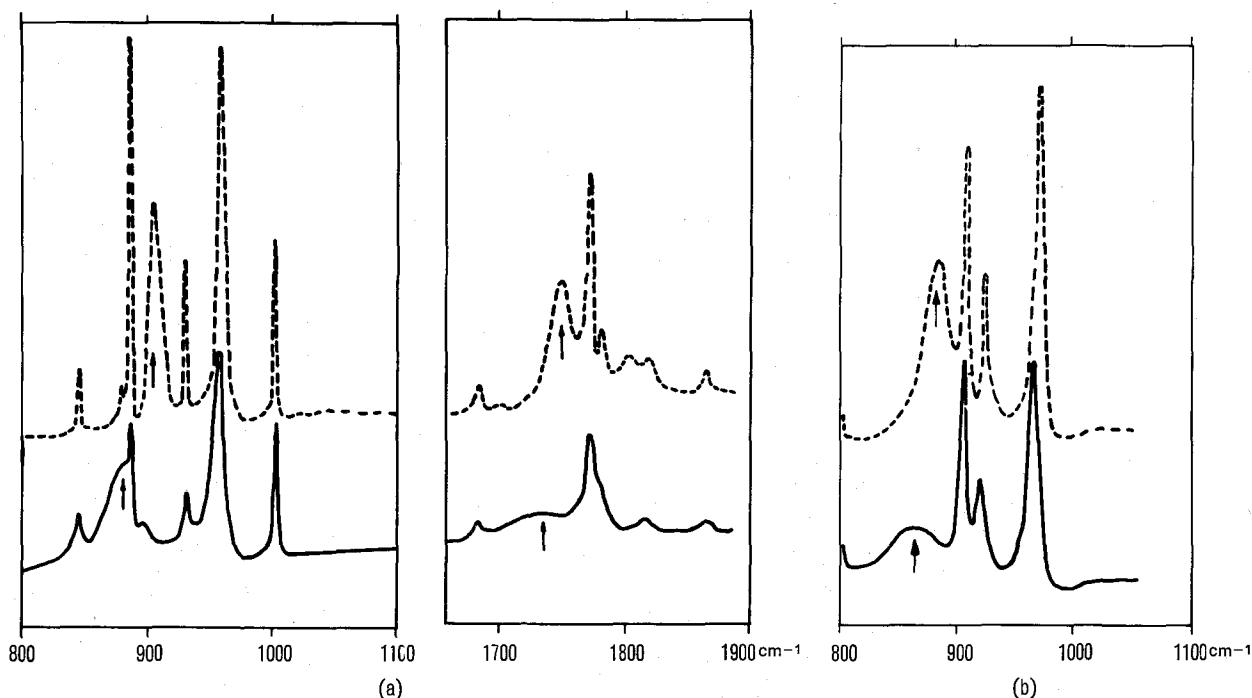
¹ Abkürzungen: H-Brücken, Wasserstoffbrücken; DNS, Desoxyribonucleinsäure; IR-Spektroskopie, Infrarotspektroskopie.

² H. FRITZSCHE, *Experientia* 27, 507 (1971).

³ YU. D. KANASKOVA, B. I. SUKHORUKOV, YU. A. PENTIN und G. V. KOMAROVSKAYA, *Nachr. Akad. Wiss. UdSSR, Abt. chem. Wiss.* 1735 (1970).

⁴ H. FRITZSCHE, Vortrag auf der III. Bulgarischen Konferenz über Spektroskopie (Varna 1968).

⁵ Y. KYOGOKU, S. HIGUCHI und M. Tsuboi, *Spectrochim. Acta* 23A, 969 (1967).



IR-Spektren von Benzimidazol (a) und Purin (b) bei 300°K (ausgezogene Kurven) und 100°K (gestrichelte Kurven), Messungen im festen Zustand als Nujol-Emulsionen mit einem IR-Spektrometer Perkin-Elmer-Modell 521 und einer Tieftemperaturküvette von RIIC.

Aus den IR-Spektren ermittelte nichtebene NH-Deformationsschwingungen γ_{NH} und NH_2 -Kipperschwingungen ω_{NH_2}

Substanz	Lage des Absorptionsmaximums (in cm^{-1})	«Kälteverschiebung» $\Delta\nu_K$ (in cm^{-1})	Zuordnung
Benzimidazol	881	+27	γ_{NH}
	1736	+15	$2\gamma_{\text{NH}}$
Benzimidazol-[D ₁]	1288	+17	$2\gamma_{\text{NH}}$
Purin	864	+22	γ_{NH}
Adenin	etwa 665 ^b		ω_{NH_2}
	870 ^b		γ_{NH}
7-Methyladenin	580	+15	ω_{NH_2}
	1150	+9	$2\omega_{\text{NH}_2}$
8-Azaadenin	880	+12	γ_{NH}
9-Methyladenin	690 ^c	+17	ω_{NH_2}
1-Methylthymin	845	+15	γ_{NH}
	882 ^c		
A-T-Modell	615 ^c		ω_{NH_2} (Adenin)
	917 ^c		γ_{NH} (Thymin)
1-Methylcytosin	683	+5	ω_{NH_2}
9-Äthylguanin	860		γ_{NH}
	655	+18	ω_{NH_2}
G-C-Modell	890	+12	γ_{NH} (Guanin)
	700		ω_{NH_2} (Cytosin)

Präparation: Nujol-Emulsion oder KBr-Tablette; verwendete Geräte: Perkin-Elmer Modell 521^a, Carl Zeiss Jena UR 10 bzw. UR 20. ^aDie Messungen an diesem Gerät wurden bei einem Studienaufenthalt im Chemischen Institut «Boris Kidrič» (Ljubljana) durchgeführt; für die Ermöglichung dieser Arbeiten danke ich Herrn Prof. D. HADŽI. ^bMessungen von KANASKOVA et al.². ^cMessungen von KYOGOKU et al.³.

Neben der üblicherweise verwendeten N-Deuterierung können demzufolge zur Zuordnung der NH-Deformationsschwingungen auch die beim Abkühlen der festen Proben auftretenden beträchtlichen Verschiebungen der Absorptionsmaxima zu grösseren Wellenzahlen benutzt werden. Eine Änderung in der Stärke der H-Brücken, wie sie bei Ausbildung der komplementären Basenpaarung in den Nucleinsäuren auftritt, führt oft zu weiteren Verschiebungen dieser IR-Banden und kann die getroffenen Zuordnungen erhärten. Offensichtlich lassen sich schon relativ geringe Änderungen der Stärke der H-Brücken in diesen Systemen aus Verschiebungen der γ_{NH} oder ω_{NH_2} nachweisen. Dadurch wird die Möglichkeit eröffnet, Konformationsunterschiede in den Nukleinsäuren – soweit sie die Stärke der H-Brücken zwischen komplementären Basen beeinflussen – mit Hilfe dieser Schwingungsfrequenzen zu erfassen.

Summary. The NH out-of-plane deformation and the NH_2 wagging vibrations of base-pairing models of DNA and related model substances in the solid state are assigned by deuteration shifts, cooling shifts, and shifts caused by the complementary base-pairing. The sensitivity of the frequencies of these vibrations to variations of the hydrogen bond strength may be useful to follow conformational changes of nucleic acids.

H. FRITZSCHE

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Zentralinstitut für Mikrobiologie und Experimentelle
Therapie, Abteilung Biophysikochemie,
DDR-69 Jena (DDR), 27. September 1971.

Pteridine Content of Some Methane- and Methanol-Oxidizing Bacteria

The alcohol dehydrogenase of *Pseudomonas* sp. M27 is thought to contain a pteridine cofactor¹. Similar ammonium-ion-activated, phenazine-methosulfate-linked alcohol dehydrogenases have been found in a number of methane- and methanol-oxidizing bacteria². These findings prompted us to measure the amounts of pteridines in some of these organisms in an attempt to correlate pteridine content and the presence of a methanol/alcohol dehydrogenase, and as a first step in the actual isolation and elucidation of the structures of individual compounds.

Pteridine content was measured by submitting lyophilized samples of bacteria to alkaline permanganate oxidation as described previously³. Measurement of fluorescence (almost completely due to 2-amino-4-hydroxy-6-carboxypteridine) after oxidation provides a

simple, accurate value of the pteridine content for comparison among different species. The results are given in the Table.

It is obvious that no significant correlation exists between pteridine content and the presence of methanol/alcohol dehydrogenases. Values cover a wide range and *Escherichia coli*, for example, has a pteridine content intermediate between the lowest and highest value. The amount in *Anacystis nidulans* (a blue-green alga) is very

¹ C. ANTHONY and L. J. ZATMAN, Biochem. J. 104, 960 (1967).

² R. N. PATEL and D. S. HOARE, personal communication.

³ F. I. MACLEAN, H. S. FORREST and D. S. HOARE, Arch. Biochem. Biophys. 117, 54 (1966).