

where C_m still depends on the moment of inertia. The values of C_m and C_θ are:

$$\text{H}^{35}\text{Cl}/\text{H}^{37}\text{Cl}: C_m = 0.0818$$

$$\text{D}^{35}\text{Cl}/\text{D}^{37}\text{Cl}: C_m = 0.100$$

$$\text{H}^{35}\text{Cl}/\text{D}^{35}\text{Cl}: C_m = 0,0909; \quad C_\theta = -0.00645.$$

KIHARA's theory yields a value for C_m too small by a factor 1,42. C_θ calculated from TRÜBENBACHER's theory differs from the experimental value by 23% only.

Physikalisch-chemisches Institut
der Universität Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. QUINTANILLA, Dissertation, Zaragoza 1964, ausgeführt im Physikalisch-chemischen Institut der Universität Zürich.
- [2] P. ZONDLER, Dissertation Universität Zürich 1966.
- [3] K. CLUSIUS & P. FLUBACHER, *Helv.* **41**, 2323 (1958); K. CLUSIUS, *Helv.* **44**, 1349 (1961).
- [4] J. SCHIRDEWAHN, A. KLEMM & L. WALDMANN, *Z. Naturforsch.* **16a**, 133 (1961).
- [5] A. DE VRIES, A. HARING & W. SLOTS, *Proc. International Symposium on Isotope Separation*, Amsterdam 1958, p. 478; *Physica* **22**, 247 (1956); A. DE VRIES & A. HARING, *Z. Naturforsch.* **19a**, 225 (1964).
- [6] E. W. BECKER & W. BEYRICH, *J. physic. Chemistry* **56**, 911 (1952).
- [7] W. H. FURRY, R. C. JONES & L. ONSAGER, *Rev. mod. Physics* **55**, 1083 (1939).
- [8] L. STIER, *Physic. Rev.* **62**, 548 (1942); T. I. WATSON, W. W. MORAN, *ibid.* **109**, 1184 (1958); A. K. MANN, *ibid.* **73**, 412 (1948).
- [9] W. H. FURRY & R. C. JONES, *Rev. mod. Physics* **18**, 151 (1946).
- [10] J. O. HIRSCHFELDER, C. F. CURTIS & R. B. BIRD, 'Molecular Theory of Gases and Liquids', John Wiley & Sons, Inc., New York 1954.
- [11] E. TRÜBENBACHER, *Z. Naturforsch.* **17a**, 539 (1962).

49. Über Pterinchemie

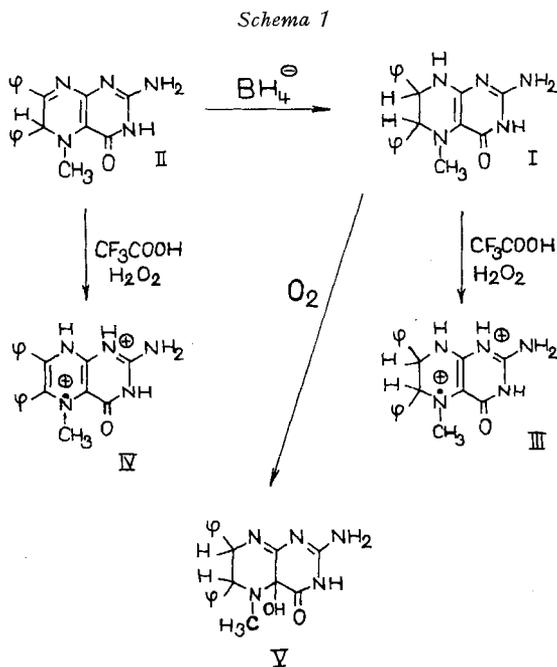
18. Mitteilung [1]

Monohydro- und Trihydropterin-Radikale

von A. Ehrenberg, P. Hemmerich, F. Müller, T. Okada und M. Viscontini

(24. XII. 66)

In der 17. Mitteilung dieser Reihe [1] haben VISCONTINI *et al.* die Synthese des Tetrahydropterins I durch NaBH_4 -Reduktion des entsprechenden 5,6-Dihydropterins II beschrieben, dessen Luftempfindlichkeit durch Einführung einer Methylgruppe am N(5) stark vermindert ist. Es war daher möglich, an diesem Modell den Verlauf der Tetrahydropterin-Autoxydation zu verfolgen und ein stabiles Zwischenprodukt mit der Zusammensetzung eines um ein O-Atom reicheren N(5)-Methyl-6,7-diphenyl-5,6,7,8-tetrahydropterins zu isolieren. Die Autoren schlossen daraus weiter, dass als erstes Zwischenprodukt bei der Elektronenentnahme aus Tetrahydropterin ein relativ stabiles Radikal denkbar sei. Wir berichten in dieser Mitteilung über stabile Radikal-Kationen der Struktur III bzw. IV, welche bei der Oxyda-



tion von I bzw. II mit Perameisensäure bzw. Trifluorperessigsäure auftreten und durch Hyperfeinstrukturanalyse der Elektronenspinresonanz strukturell abgeklärt wurden.

Fig. 1 und 2 zeigen die ESR.-Spektren, welche auftreten, wenn Lösungen von I bzw. II in wasserfreiem CF_3COOH mit einer Spur Perhydrol versetzt werden. Die Radikale haben bei Raumtemperatur eine mittlere Lebensdauer von 5–10 Minuten, was eine geringfügige scheinbare Asymmetrie der Hyperfeinstruktur zur Folge hat. Das Auftreten und Verschwinden der Signale bei der Peroxydation von I ist begleitet von einer Rotfärbung. Obwohl das 5,6-Dihydropterin II selbst rot gefärbt ist, kann die beobachtete Intermediärfärbung damit kaum erklärt werden. Wir wissen in der

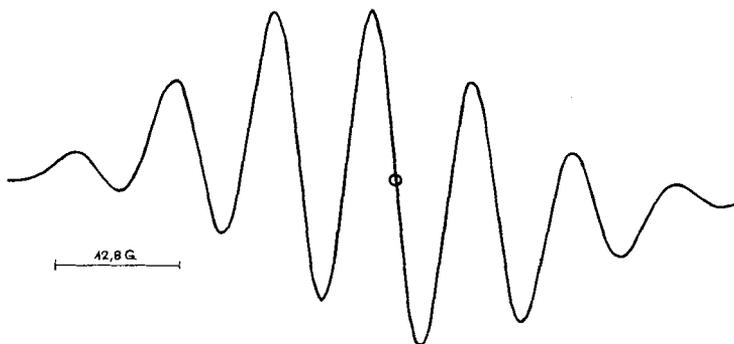


Fig. 1. Signal des « Trihydropterins » III, in CF_3COOH oder CF_3COOD

Tat, dass die Reoxydation von Tetrahydropterinen nicht zu 5,6-Dihydropterenen führt [2]. Die Reaktion $II \rightarrow I$ ist also irreversibel, daher ordnen wir die rote Farbe den Radikal-Kationen III zu.

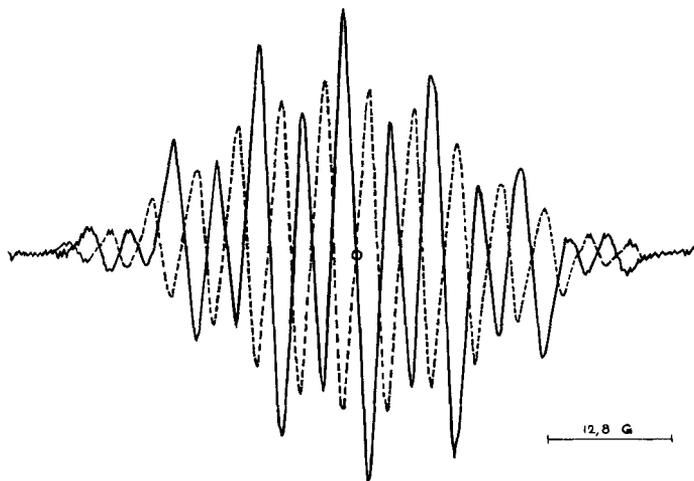


Fig. 2. Signal des « Monohydropterins » IV: ---- in CF_3COOD , — in CF_3COOH

Wir formulieren somit den Oxydationsverlauf gemäss Schema 1 in Analogie zu den bei entsprechenden Flavinen (= Benzopteridinen) [3] gefundenen Strukturen. Im einzelnen erheben wir dazu die folgenden beweiskräftigen Befunde:

1) Das sehr einfache Signal der Radikal-Kationen III (Fig. 1) ist erklärbar unter der Annahme annähernd gleichstarker Kopplung zwischen einem Stickstoffatom und vier hyperkonjugierten Protonen. Diese Zuordnung ist nicht nur hinreichend, sondern auch notwendig, da jedes andere Schema die Beteiligung eines weiteren Stickstoffatoms und damit jedenfalls mehr als 7 Linien verlangen würde. In Übereinstimmung mit dieser Zuordnung bleibt das Signal in deuteriertem Milieu (CF_3COOD) unverändert. Die Äquivalenz der H- und N-Kopplung deutet auf die Planarität des N(5)-Zentrums [4]. Die Übereinstimmung der gefundenen und berechneten Linienintensitäten (Tabelle) ist ebenfalls befriedigend, wenn man die kinetische Instabilität des

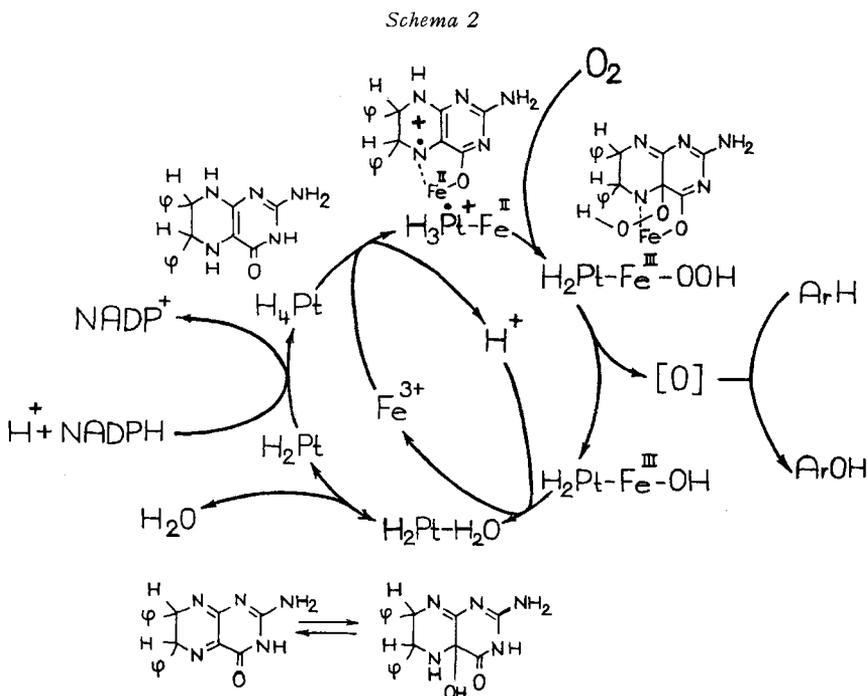
Berechnete und gefundene Linienintensitäten in den ESR.-Spektren der Radikal-Kationen III und IV

Spektrum	Kopplungs- schema	Kopplungs- konstante (a) in Gauss	Relative Linienintensitäten							
			Ber. 1	5	11	14	Gef. 0,9	4,8	10,6	14
Radikal III	$N(5) \sim N(5) - CH_3 \sim$ $C(6) - H = a$	10 ± 1	Ber. 1	5	11	14	Gef. 0,9	4,8	10,6	14
Radikal IV CF_3COOD	$N(5) \sim N(5) - CH_3 = a$ $N(8) \sim a/2;$ $N(8) - D \sim 0,1 a$	9 ± 1	Ber. 1	1	5	4	11	7	14	
			Gef. 1,2	1,0	5,7	4,6	11,3	8,0	14	
CF_3COOH	$N(5) \sim N(5) - CH_3 = a$ $N(8) \sim N(8) - H = a/2$	9 ± 1	Ber. 1	2	6	9	15	18	21	
			Gef. 1,3	2,4	6,2	9,6	15,0	18,5	21	

vorliegenden Radikals und die unvollständige Auflösung der Linien in Rechnung stellt.

2) Das Signal der Radikal-Kationen IV (Fig. 2) entspricht demgegenüber einem über den ganzen Pyrazin-Ring delokalisierten Spin, d. h. einer Kopplung von $^{14}\text{N}(5)$ und $\text{N}(5)\text{-CH}_3$ mit ~ 9 G zuzüglich $^{14}\text{N}(8)$ und $\text{N}(8)\text{-H}$ mit $\sim 4,5$ G, worauf wir in nachfolgenden Mitteilungen noch näher eingehen werden durch Vergleich mit analogen Monohydropterenen [5] und Flavosemichinonen [6]. Wie danach zu verlangen, ist eines der vier ESR.-aktiven Protonen, nämlich $\text{H-N}(8)$, mobil, wie das in CF_3COOD aufgenommene Vergleichsspektrum zeigt.

3) Das bei Überoxydation des Radikals III entstehende Sauerstoffadditionsprodukt besitzt die Struktur der Pseudobase V eines $\text{N}(5)$ -Methyl-6,7-dihydropteriniumsalzes, wie von VISCONTINI & OKADA [7] nunmehr sichergestellt ist. Dies entspricht für den 5-substituierten Analogfall dem von VISCONTINI [8] und von HEMMERICH [9] unabhängig voneinander geforderten «chinoiden Dihydropterin» (6,7-Dihydropterin, vgl. « H_2Pt » in Schema 2) als erstem Singulett-Zwischenprodukt der Tetrahydropterin-Oxydation. Möglicherweise treten diese Zwischenprodukte in Form ihrer «kovalenten Hydrate» (Schema 2: $\text{H}_2\text{Pt-H}_2\text{O}$) auf, auch könnten andere nucleophile Reste anstelle von OH diese Struktur, zumal im Proteinverband, stabilisieren.



Die von uns untersuchten 5-Methyl-derivate erscheinen deshalb als gute Modelle für den biologischen Mechanismus der Pterin-abhängigen Hydroxylierung, weil die biologische Reaktion im Verband eines Eisenkomplexes abläuft: Das an $\text{N}(5)$ stabil

koordinierte Eisen übernimmt offenbar die Funktion eines stabilisierenden Substituenten für die Radikalform und die «chinoide Dihydroform» und vermittelt zugleich die Elektronenübertragung, beides unter physiologischen pH-Bedingungen, welche im Falle unserer Modellradikale nicht gegeben sind.

Wir formulieren daher den katalytischen Prozess hypothetisch gemäss Schema 2. Hervorzuheben ist, dass für den Trihydropterin-Fe-Komplex keine ESR.-Aktivität zu erwarten ist. Dies könnte höchstens für ein diamagnetisches Zentralatom der Fall sein, wie an analogen Flavosemichinon-Chelaten von HEMMERICH *et al.* [10] gezeigt wurde. Systematische Untersuchungen solcher Hydropterin-Metallchelate sind in Vorbereitung.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass in der Pterinreihe sowohl Mono- hydro- wie Trihydro-Radikale existenzfähig sind: Die ersteren sind strukturell den Flavosemichinonen vergleichbar und vermutlich biologisch bedeutungslos; die anderen sind Vertreter einer neuen Klasse von (Pyrimidin)-Semidionimininen, welche auch biologisch relevant sein dürften.

Weiterhin könnte die Stabilität von Trihydropteridin-Radikalen einen Schlüssel bieten zur Erklärung der CH_3 -Aktivierung an 5-Methyltetrahydrofolsäure.

Experimentelles. – Es wurden je 50 mMol des in HCOOH oder CF_3COOH gelösten Pterins mit desoxygeniertem Argon gespült und mit einer Spur 3-proz. Perhydrol versetzt. Die so erhaltene rote Lösung wurde dann unter Ausschluss von Sauerstoff in ein Quarzrohr von 1,3 mm innerem Durchmesser übergeführt. Die ESR.-Spektren wurden bei Zimmertemperatur mit einem VARIAN-V-4500 100-KHz-Spektrometer gemessen. Als experimentelle Linienintensität wurden die arithmetisch gemittelten Signalhöhen der jeweils i -ten und $(n - i + 1)$ -ten Linie angesetzt.

Diese Studien wurden unterstützt vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG (P. HEMMERICH, M. VISCONTINI), vom SCHWEDISCHEN MEDIZINISCHEN FORSCHUNGSRAT, vom SCHWEDISCHEN NATURWISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNGSRAT sowie vom U. S. PUBLIC HEALTH SERVICE, Research Grant AM-05895 (A. EHRENBERG), und von der EIDGENÖSSISCHEN STIFTUNG ZUR FÖRDERUNG SCHWEIZERISCHER VOLKSWIRTSCHAFT DURCH WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG sowie von der STIFTUNG FÜR WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG AN DER UNIVERSITÄT ZÜRICH (M. VISCONTI, T. OKADA).

SUMMARY

By oxydation of N(5)-methyl-6,7-diphenyl-5,6-dihydro- and N(5)-methyl-6,7-diphenyl-5,6,7,8-tetrahydro-pterine derivatives with perhydrol 8-monohydro- and 6,7,8-trihydro-pteridine radical cations are produced which are sufficiently stable for detection and structural elucidation by ESR. hyperfine analysis. The biological implications of these radicals for pteridine dependent hydroxylation and methyl transfer from 5-methylfolinic acid are discussed.

Medicinska Nobelinstitutet,
Biokemiska Avdelningen, Karolinska Institutet,
Stockholm 60 (A. E.)

Institut für Anorganische Chemie an der
Universität Basel (P. H., F. M.)

Organisch-Chemisches Institut
der Universität Zürich (T. O., M. V.)

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 17. Mitteilung: M. VISCONTINI, H. LEIDNER, G. MATTERN & T. OKADA, *Helv.* **49**, 1911 (1966).
 [2] M. VISCONTINI & A. BOBST, *Helv.* **48**, 816 (1965).
 [3] P. HEMMERICH, V. MASSEY & G. WEBER, *Nature*, im Druck.
 [4] G. ERIKSSON & A. EHRENBERG, *Acta chem. scand.* **18**, 1437 (1964).
 [5] P. HEMMERICH, F. MÜLLER, W. PFLEIDERER & A. EHRENBERG, in Vorbereitung.
 [6] A. EHRENBERG, P. HEMMERICH & F. MÜLLER, in Vorbereitung.
 [7] M. VISCONTINI & T. OKADA, *Helv.*, in Vorbereitung.
 [8] M. VISCONTINI in «Pteridine Chemistry», ed. by W. PFLEIDERER & E. C. TAYLOR, Pergamon Press, New York 1964, S. 267.
 [9] P. HEMMERICH, in «Pteridine Chemistry» [8], S. 163.
 [10] P. HEMMERICH, D. V. DERVARTANIAN, C. VEEGER & J. D. W. VAN VOORST, *Biochim. biophysica Acta* **77**, 504 (1963).

50. Die sterischen Bedingungen der Fragmentierungsreaktion

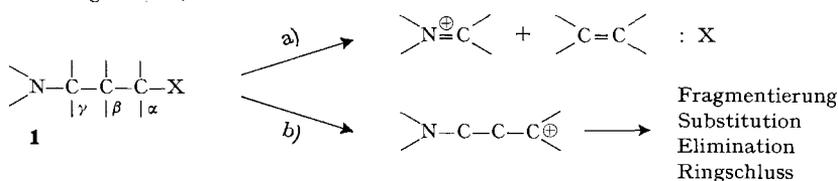
III. Teil. Stereoisomere 4-, 5- und 7-Decahydrochinolyl-toluolsulfonate

Fragmentierungsreaktionen, 16. Mitteilung

von C. A. Grob, H. R. Kiefer, H. J. Lutz und H. J. Wilkens

(10. I. 67)

Zum Nachweis der sterischen Bedingungen heterolytischer Fragmentierungsreaktionen¹⁾ eignen sich Vergleiche der Reaktivität stereoisomerer γ -Aminoalkohol-Derivate **1** (X = Halogen, RSO₃ usw.) mit definierter Konfiguration oder Konformation. Die eine Form sollte die stereoelektronischen Voraussetzungen zur synchronen Fragmentierung gemäss a) erfüllen, nämlich antiperiplanare Orientierung der C α -X-Bindung und des freien Elektronenpaares am Stickstoffatom in bezug auf die zu lösende C β -C γ -Bindung [2]. Eine stereoisomere Form sollte diese Bedingungen nicht erfüllen und daher nach dem zweistufigen Mechanismus b), d. h. über ein γ -Aminocarbenium-Ion reagieren. In diesem Fall wäre mit Nebenreaktionen, wie Substitution, Elimination und Ringschluss, zu rechnen.



In zwei früheren Mitteilungen²⁾ konnte die Richtigkeit dieser Auffassung erwiesen werden, indem bei epimeren Verbindungspaaren der oben definierten Art sich jeweils nur eine Form nach dem synchronen Mechanismus a) fragmentierte. Bei der epimeren Verbindung trat eine Fragmentierung entweder nicht oder nur in untergeordnetem Masse nach dem zweistufigen Mechanismus b) ein.

¹⁾ Vgl. die Übersicht «Heterolytische Fragmentierung in der organischen Chemie» [1].

²⁾ Vgl. den I. und II. Teil [3] sowie eine vorläufige Mitteilung [4].