

Université de Paris, Institut de Biologie Physico-chimique, 13, rue P. Curie, Paris V<sup>e</sup>

## Configuration spatiale et propriétés électroniques du noyau d'isoalloxazine

Par

JEAN-PAUL MALRIEU et BERNARD PULLMAN

L'isoalloxazine réduite et son radical libre en milieu acide sont probablement pliés le long de l'axe passant par les deux atomes d'azote du cycle central. Mais les groupements attachés à ces atomes pouvant prendre chacun deux positions par rapport aux cycles latéraux, quatre configurations pliées limites sont à étudier. Des calculs sont effectués par la méthode des orbitales moléculaires sur la modification des caractéristiques électroniques de l'isoalloxazine par le pliage. L'énergie de la plus haute orbitale moléculaire occupée apparaît très sensible aux modifications de la structure géométrique. La répartition théorique des densités de spin dans le radical pour les différentes configurations possibles est comparée aux résultats expérimentaux de différents auteurs. Cette comparaison suggère que la configuration  $H_9$  extra  $H_{10}$  intra pourrait être la plus probable.

Une étude semblable est faite sur le radical dicationique de l'alloxazine.

Reduced isoalloxazine and its cationic free radical are probably folded along the axis passing through the two nitrogen atoms of the central ring. The protons or the alkyl substituents attached to these atoms may be placed between or out of the planes of the two lateral rings; and four folded configurations must be studied. Calculations are carried out by the molecular orbital method on the modification of the electronic characteristics of the reduced isoalloxazine ring as a result of folding. It is shown that the energy of the highest occupied molecular orbital is a very sensitive function of the geometrical configuration of the molecule. The theoretical distributions of spin densities in the radical for the different possible configurations are compared with the experimental results and suggest that the " $H_9$  extra  $H_{10}$  intra" configuration is the most probable.

The dicationic radical of alloxazine ring is studied in the same way.

Das Dihydroisoalloxazin und sein Radikalkation sind wahrscheinlich längs der zentralen N-N-Verbindungsline gefaltet. Da dabei die an diese Atome gebundenen Gruppen je zwei Lagen einnehmen können, sind vier nichtebene Konfigurationen zu untersuchen. Wir berechnen nach der MO-Methode die Änderung der elektronischen Charakteristika des neutralen Systems beim Falten. Die Energie des obersten besetzten Molekülorbitals erweist sich als sehr empfindlich gegen die Änderungen der Geometrie. Die für die verschiedenen Konfigurationen berechneten Spindichteverteilungen im Radikal werden mit Meßwerten mehrerer Autoren verglichen. Dieser Vergleich legt die Form  $H_9$  extra  $H_{10}$  intra nahe. Das zweifach positiv geladene Radikal wird entsprechend behandelt.

Le noyau d'isoalloxazine est un centre réactionnel essentiel des coenzymes flaviniques, siège, en particulier, des oxydo-réductions enzymatiques. Un intérêt spécial s'attache au point de vue théorique à la forme réduite de ce composé. En effet, les calculs effectués pour cette forme par la méthode des orbitales moléculaires dans l'approximation de HÜCKEL ([39] p. 784) indiquent que celle-ci devrait posséder une plus haute orbitale occupée (p. h. o. o.) antiliante, le coefficient  $k_i$  de

l'énergie de cette orbitale:

$$E_i = \alpha_C + k_i \beta_{CC}$$

étant négatif ( $-0,096$ ). C'est là un résultat rare, indiquant un pouvoir réducteur très prononcé.

Les calculs précités ont été effectués, tout comme pour la forme oxydée, en considérant la molécule comme étant pratiquement plane. Toutefois les mêmes auteurs ont fait remarquer [39, p. 551] que, si l'hypothèse de planéité paraissait justifiée pour la forme oxydée de l'isoalloxazine, il n'en était pas de même pour la forme réduite (Fig. 1) dont le noyau central devait être plié le long de l'axe passant par ses deux groupes NH. En effet, les atomes d'azote dans cet état d'oxydation tendent à prendre une configuration tétragonale, analogue à celle du carbone  $sp^3$ . Les angles en  $N_9$  et  $N_{10}$  qui sont très proches de  $120^\circ$  dans la configuration plane correspondant à l'état oxydé, diminuent dans l'état réduit et tendent vers la valeur de  $109^\circ 28'$ , correspondant à l'état tétragonal parfait. Le résultat d'une telle configuration des azotes 9 et 10 est de plier la molécule le long de l'axe  $N_9-N_{10}$ , comme les feuillets d'un livre entrouvert autour de la reliure. L'angle entre les plans qui portent les deux cycles latéraux est aisément calculable en fonction des angles en N. Ces angles peuvent, d'autre part, être évalués par exemple par la mesure du moment dipolaire de la molécule [9, 27, 40, 41, 45]. Tout récemment HEMMERICH [26] a apporté des preuves chimiques et spectroscopiques (Infra Rouge et Ultra Violet) de la non-planéité des leucoflavines.

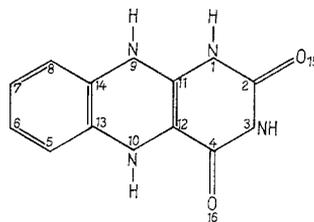


Fig. 1. Isoalloxazine réduite (forme cétonique)

Il est évident qu'un tel pliage doit influencer d'une façon notable sur les niveaux d'énergie électroniques de la molécule et ce point nous paraissait donc mériter un examen approfondi.

Un deuxième problème, pour lequel la prise en considération de la non-planéité du cycle d'isoalloxazine peut avoir des conséquences importantes, concerne la structure des radicaux libres, intermédiaires entre son état oxydé et son état réduit. La formation de tels intermédiaires a été mise en évidence par toute une série de recherches chimiques et physicochimiques, ces dernières faisant fréquemment appel à la résonance paramagnétique électronique de spin. Ces travaux sont dus à plusieurs groupes de chercheurs, parmi lesquels il faut signaler en premier lieu ceux de COMMONER [12—15] d'EHRENBERG [16—20], de BEINERT [3—5], de SZENT-GYORGYI [29, 43] de KUBO [32] et de GUZZO et TOLLIN [23—25].

Les résultats expérimentaux concernent des radicaux libres aussi bien anioniques que cationiques auxquelles ces molécules donnent naissance. Plusieurs de ces auteurs ont comparé leurs résultats avec des calculs théoriques effectués soit par la méthode de HÜCKEL [31, 38], soit par la méthode S. C. F., avec [21, 22], ou sans [2] contrainte de spin. Ces calculs ont été effectués en attribuant aux composés les structures présentées sur les Fig. 2, 3 et 4. Or l'accord avec l'expérience de ces calculs théoriques est très différent selon que l'on a affaire à des radicaux cationiques ou anioniques. Dans ce dernier cas ERIKSSON et EHRENBERG [20] aussi bien que GUZZO et TOLLIN [25] parviennent à des résultats expérimentaux en bon accord avec les calculs menés par la méthode de Hückel ou par la méthode

S. C. F. sans contrainte de spin. A l'inverse, les radicaux libres cationiques obtenus à partir de l'isoalloxazine réduite ou de l'alloxazine réduite semblent posséder une répartition des densités de spin très différente des densités théoriquement prévues. Le désaccord le plus important concernerait la densité sur l'azote  $N_1$  de l'isoalloxa-

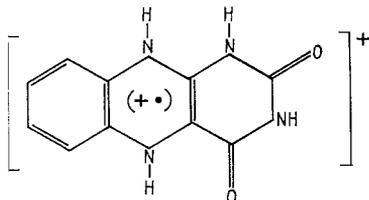


Fig. 2. Radical cationique dérivé de l'isoalloxazine en milieu acide (forme cétonique)

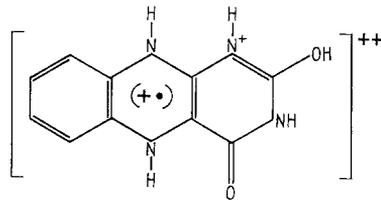


Fig. 3. Radical dicationique dérivé de l'alloxazine en milieu acide

zine, que GUZZO et TOLLIN [23] affirment très importante (0,26), alors que les calculs donnent tous une densité négligeable sur cet atome. Tout récemment, toutefois, ERIKSSON et EHRENBORG [19] ont pu affirmer au contraire, sur la base d'expériences de substitution isotopique des atomes d'azote  $N_1$  et  $N_3$ , que ces derniers ne donnent lieu à aucun couplage décelable.

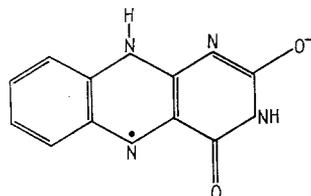


Fig. 4. Radical anionique dérivé de l'isoalloxazine en milieu basique

Ils n'ont pas proposé cependant d'interprétation générale du spectre de ces radicaux. Il apparaît donc qu'il subsiste de graves incertitudes dans l'attribution des densités de spin de ces radicaux cationiques. Mais il ne paraît pas impossible aussi que certains désaccords entre la théorie et l'expérience pour ces radicaux soient imputables, au moins partiellement, à leur non-planéité. On remarquera, en effet, au vu des formules des Fig. 2, 3 et 4, que les radicaux

anioniques possèdent le plus probablement une configuration plane, tandis que les radicaux cationiques sont vraisemblablement pliés le long de l'axe  $N_9 - N_{10}$ .

Ce sont les deux problèmes que nous venons d'évoquer qui font l'objet du présent travail.

### Configurations possibles et méthode utilisée

Naturellement la molécule peut *a priori* prendre toutes les configurations intermédiaires entre la configuration plane, pour laquelle l'angle en  $N_9$  et  $N_{10}$  vaut  $120^\circ$ , et la configuration pliée tétragonale correspondant à des angles de  $109^\circ 28'$  en  $N_9$  et  $N_{10}$ . Mais la méthode utilisée nécessite la connaissance des potentiels d'ionisation du doublet de l'atome d'azote pour chaque état d'hybridation considéré. Or on ne trouve dans la littérature [28] que les valeurs relatives aux états d'hybridation plan et tétragonale. C'est pourquoi nous nous sommes essentiellement attachés à ces deux structures limites.

Cependant plusieurs configurations moléculaires sont possibles pour la structure pliée tétragonale. En effet, les atomes d'hydrogène attachés aux atomes d'azote sont susceptibles de prendre deux positions chacun par rapport au squelette moléculaire [9]. Ils peuvent se trouver soit entre les deux cycles latéraux, c'est la position que nous avons appelée „H intra“, ou extérieurement, dans une position que nous avons appelée „H extra“. (cf. Fig. 5). Comme il n'existe ici

aucun argument de symétrie moléculaire pour éliminer les configurations „trans“, nous devons prendre en considération a priori quatre configurations limites pliées possibles :

- $H_9$  et  $H_{10}$  en position intra ;
- $H_9$  et  $H_{10}$  en position extra ;
- $H_9$  en position intra,  $H_{10}$  en position extra ;
- $H_9$  en position extra,  $H_{10}$  en position intra.

En fait chacune de ces configurations pliées possède deux inverses optiques, dont les propriétés électroniques sont évidemment identiques mais qui sont susceptibles d'introduire des propriétés optiques particulières des formes réduites par rapport aux formes oxydées.

Nos calculs ont trait à ces différentes configurations-types des molécules et des radicaux présentés dans les Fig. 1, 2 et 3, bien que les noyaux d'isoalloxazine étudiés expérimentalement présentent en général un substituant méthyl ou éthyl en position  $N_9$ . Ce substituant privilégie sans doute une configuration particulière, en raison de considérations stériques. Mais l'introduction d'un groupement méthyl dans les calculs n'amène pas de grandes modifications dans les énergies moléculaires et la répartition des charges électroniques (cf. par exemple réf. [39] p. 518, 542, 543, 783 et 784). C'est pourquoi l'une des configurations précédentes de l'isoalloxazine non substituée devrait fournir une bonne représentation de la structure électronique des composés  $N_9$  substitués.

Etant donné que les paramètres utilisés dans le présent calcul sont un peu différents de ceux utilisés antérieurement, nous avons également recalculé la molécule plane.

La méthode utilisée est une simple méthode de Hückel sans recouvrement dans laquelle les paramètres coulombiens varient en fonction du potentiel d'ionisation ou de l'électronégativité des atomes dans leurs différents états d'hybridation [34] et les paramètres d'interaction  $\eta_{xy}$  pour un même type de liaison  $X-Y$ , varient proportionnellement à l'intégrale de recouvrement  $S_{xy}$  des orbitales atomiques des atomes  $X$  et  $Y$  dans leurs états d'hybridation respectifs. Les densités de spin sont assimilées aux densités de l'électron célibataire sur la plus haute orbitale moléculaire occupée. On trouvera en [34] une discussion détaillée de l'ajustement des paramètres sur les résultats de la spectrographie ESR pour toute une série de composés plus simples du type considéré ici et en [35] un autre exemple de l'application du procédé à la phénothiazine et à son radical.

## Résultats et leur discussion

### A. Énergie des orbitales moléculaires

Nos paramètres pour la configuration plane de l'isoalloxazine étant peu différents de ceux utilisés précédemment par B. PULLMAN et A. PULLMAN, nos résultats expérimentés en  $\beta_{CC}$  sont très proches pour cette configuration de ceux obtenus

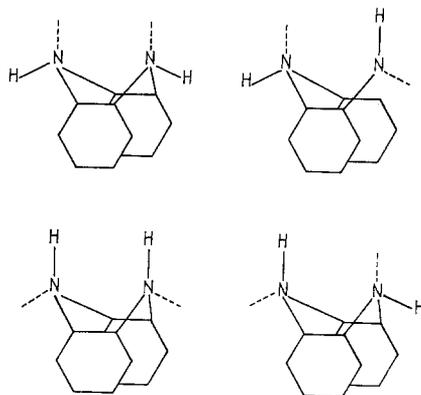


Fig. 5. Les quatre formes pliées de l'isoalloxazine

par ces auteurs (réf. [39] p. 784). En particulier (Tab. 1) la plus haute orbitale moléculaire occupée est antiliante, qu'il s'agisse de la forme cétonique ( $-0,024\beta_{CC}$ ) ou de la forme énolique ( $-0,112\beta_{CC}$ ). Ces deux formes subissent d'ailleurs au cours du pliage des variations très parallèles de leurs niveaux d'énergie.

Le pliage de la molécule amène un abaissement sensible des niveaux énergétiques des orbitales libres et des cinq plus hautes orbitales moléculaires occupées et un relèvement de plus faible amplitude des plus basses orbitales occupées. L'abaissement affecte particulièrement la plus haute orbitale moléculaire occupée. L'abaissement énergétique de cette orbitale est un peu moins marqué pour la forme cétonique que pour la forme énolique, mais il est toujours suffisant pour rendre la p. h. o. o. liante dans toutes les configurations pliées étudiées. L'amplitude de cet abaissement énergétique dépend cependant considérablement de la configuration géométrique. En effet, pour la disposition „H intra“ le doublet de l'azote présente encore une conjugaison importante avec le système  $\pi$  des cycles latéraux ( $\eta_{CN} = 0,65$ ) et la plus haute orbitale occupée n'est que faiblement abaissée. Pour la position „H extra“ au contraire, le doublet de l'azote est très faiblement conjugué ( $\eta_{CN} = 0,27$ ) et la chute énergétique de la p. h. o. o. est plus importante. L'abaissement est donc maximum pour la configuration pliée „H<sub>9</sub> et H<sub>10</sub> extra“ ( $0,491\beta$  pour la forme énolique,  $0,498\beta$  pour la forme cétonique). Les configurations „trans“ présentent un abaissement intermédiaire.

Du fait des variations en sens inverse des plus hautes et des plus basses orbitales moléculaires occupées, l'énergie électronique totale du système  $\pi$

$$E_T = 20 \alpha_C + 2 \sum_{i=1}^{10} m_i \beta_{CC}$$

ne subit qu'une faible variation (négative) au cours du pliage. Ainsi pour l'isalloxazine dans la forme cétonique, l'énergie électronique totale vaut  $20\alpha + 29,72\beta$  pour la configuration plane,  $20\alpha + 30,64\beta$  dans la forme H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> intra,  $20\alpha + 30,28\beta$  dans la forme H<sub>9</sub> intra H<sub>10</sub> extra,  $20\alpha + 30,32\beta$  dans la disposition trans inverse et  $20\alpha + 30,04\beta$  dans la forme H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> extra.

Tableau 1. *Energies des plus haute orbitale occupée et plus basse orbitale libre de l'isalloxazine réduite*

	Plane		Pliée H <sub>9</sub> H <sub>10</sub> intra		Pliée H <sub>9</sub> intra H <sub>10</sub> extra		Pliée H <sub>9</sub> extra H <sub>10</sub> intra		Pliée H <sub>9</sub> et H <sub>10</sub> extra	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
P. b. o. l.	-0,92	-0,99	-0,91	-0,99	-0,90	-0,99	-0,90	-0,99	-0,88	-0,98
P. h. o. o.	-0,112	-0,024	0,154	0,176	0,341	0,392	0,232	0,290	0,379	0,474

a = forme énolique

b = forme cétonique.

Ces différences énergétiques entre configurations pliées différentes sont peut être à mettre en rapport avec les différences des potentiels d'oxydo-réduction liées aux changements des positions des groupements substituants méthyl sur le cycle benzénique [11].

*B. Propriétés électroniques des radicaux libres cationiques*

**I. Discussion des résultats expérimentaux.** La détermination des densités de spin expérimentales sur les différents atomes pouvant donner lieu à un couplage, se heurte à deux types de difficultés :

1. L'attribution des couplages expérimentaux révélés par l'analyse du spectre à des noyaux définis dans la molécule. Les interprétations discordantes de KUBO et al. [32] et de GUZZO et TOLLIN [23], et la critique rapportée plus haut des résultats de GUZZO et TOLLIN par EHRENBERG et ERIKSSON illustrent ce premier type de difficulté.

2. La détermination de valeurs adéquates des paramètres  $Q$  de proportionnalité entre le couplage expérimental et la densité de spin. Nous voudrions discuter ici les valeurs employées antérieurement à ce propos.

Les couplages pouvant intervenir dans les molécules du type de celles considérées ici sont qualitativement de trois sortes :

a) Les couplages entre un proton attaché à un atome de carbone et l'électron  $\pi$  célibataire. La valeur du couplage est donnée par :

$$a_H = Q_{CH} \rho_C ,$$

où  $\rho_C$  représente la densité de l'électron célibataire sur le carbone voisin. Des valeurs très variables ont été utilisées pour  $Q_{CH}$  qui vont de 22,5 [33] à 31 gauss [8]. Nous prendrons une valeur moyenne :  $Q_{CH} = 24$  G.

b) Les couplages entre un proton attaché à un atome d'azote, éventuellement appartenant à un groupement méthyle ou éthyle fixé sur cet atome, et l'électron célibataire. Pour les interactions de ce type les auteurs [6, 42] ont seulement proposé une formule simple du type

$$a_{NH} = Q_{NH} \rho_N \quad (1)$$

où  $\rho_N$  est la densité de l'électron célibataire sur l'atome d'azote.

c) Les couplages entre le noyau de l'azote et l'électron célibataire. Pour ce type d'interaction, les auteurs ont proposé des formules de complexité variable, soit du type

$$a_N = Q_1 \rho_N + Q_2 \sum \rho_C \quad [44, 36] \quad (2)$$

où  $\rho_C$  représente les densités sur les atomes de carbone voisins de l'atome d'azote, soit du type

$$a_N = Q_N \rho_N \quad [6, 10] . \quad (3)$$

Pour ces deux derniers types de couplage, il nous paraît nécessaire de tenir compte de l'état d'hybridation de l'atome d'azote. Si le radical libre est plan, les atomes d'azote  $N_9$ ,  $N_{10}$ ,  $N_1$  et  $N_3$  sont tous dans l'état d'hybridation  $sp^2$ . L'interprétation des interactions spin-spin fait alors appel à l'interaction de configuration avec les états  $\sigma$  excités, et KARPLUS et FRAENKEL [30] ont montré que l'on aboutit à une formule du type (2). Par ailleurs, pour un état d'hybridation  $sp^2$ , il faut distinguer les atomes d'azote liés à deux atomes ( $C-N=C$ ) et les atomes d'azote liés à trois atomes ( $C-NH-C$ ). Les premiers ont fait l'objet de nombreuses études. Dans les formules de type (3), CARRINGTON et dos SANTOS-VEIGA [10] proposent la valeur

$$Q_N = 25 \text{ G} ,$$

tandis que WARD [44] d'une part, et ATHERTON et al. [1] d'autre part donnent des

indications (d'ailleurs contradictoires) sur les valeurs des paramètres de la formule (2). Les valeurs les plus sûres semblent être celles proposées par STONE et MAKI [42].

$$Q_1 = 22 \text{ G}$$

$$Q_2 = - 2 \text{ G} .$$

Ces valeurs ne peuvent être utilisées en toute rigueur que pour l'azote  $N_1$  dans les formes énoliques.

Nous manquons de données expérimentales pour les interactions azote-électron quand l'atome d'azote est triplement lié et dans un état d'hybridation  $sp^2$  (ce qui correspond ici aux atomes  $N_3$  et  $N_1$  dans les formes cétoniques de toutes les configurations, et aux atomes  $N_9$  et  $N_{10}$  de la configuration plane). En effet les valeurs proposées tant pour  $Q_{NH}$  (1) que  $Q_N$  (2) par BOLTON, CARRINGTON et dos SANTOS-VEIGA [6] concernent sans doute des configurations pliées des molécules étudiées et un état d'hybridation  $sp^3$  des atomes d'azote [34]. La seule exception concerne le cation semiquinonique du 4.4'-dipyridyl [6]. Par confrontation de nos calculs théoriques avec les données expérimentales concernant cet ion [34] nous proposons pour ces configurations les valeurs:

$$Q_{NH} = - 31 \text{ G pour la formule (1)}$$

$$\text{et } Q_N = 27 \text{ G pour la formule (3)} .$$

Si le radical libre est plié, les mécanismes d'interaction azote-électron peuvent être différents; l'orbitale hybride de l'azote  $sp^3$  intervenant dans le système  $\pi$  a en effet une densité non nulle sur le noyau  $^{14}N$ . Cette remarque vaut aussi pour le proton attaché à l'azote et l'interaction  $a_{NH}$ . Dans ces conditions l'intervention des densités sur les atomes de carbone voisins n'est plus celle proposée par KARPLUS et FRAENKEL et nous n'avons aucun renseignement sur les signes et les valeurs des paramètres  $Q_1$  et  $Q_2$  de la formule (3).

Nous disposons cependant dans ce cas de données expérimentales: BOLTON, CARRINGTON et dos SANTOS-VEIGA [6] proposent pour ce type de couplage N(H)  $sp^3$ , la valeur  $Q_N = 32 - 36 \text{ G}$  pour la formule (2). Des mesures plus précises et plus directement interprétables de STONE et MAKI [42] sur la diprotopyrazine conduisent à la valeur  $Q_N = 36 \pm 2 \text{ G}$ .

Dans une configuration pliée, la formule (1) pour interpréter le couplage  $a_{NH}$  semble trop simple. En effet, le proton se trouve alors en dehors du plan des noyaux C, N, C et l'orbitale  $\pi$  des carbones  $C_{sp^2}$  voisins de l'atome d'azote possède une densité non nulle sur le proton. Une interaction peut en résulter, comme cela a pu être démontré par BOX et al. [7] sur le cristal du chlorhydrate de la glycylglycine. C'est pourquoi nous pensons que lorsque les atomes d'azote sont dans l'état d'hybridation  $sp^3$ , il serait préférable de substituer à la formule (1) une formule du type:

$$a_{(N)H} = Q_{(N)H} \rho_N + Q_{C(N)H} \sum \rho_C . \quad (4)$$

En fait le second paramètre de cette formule dépend de l'orientation de la liaison N-H par rapport à la direction des orbitales  $\pi$  des atomes de carbone et les configurations „H intra“ et „H extra“ donneraient lieu à des valeurs différentes des paramètres [34].

Faute de données expérimentales suffisantes, nous utiliserons néanmoins la formule (1), pour laquelle STONE et MAKI [42] proposent

$$Q_{(N)H} = - 38,8 \pm 2 \text{ G} .$$

Cette valeur, déduite des mesures relatives à la diprotopyrazine est compatible avec les valeurs proposées par BOLTON et al. [6] à partir de composés analogues :

$$Q_{(N)H} = - 35 - 39 \text{ G} .$$

Malheureusement, ces valeurs concernent sans doute des configurations pliées „H intra“ et nous ne savons pas quel écart peuvent présenter les configurations „extra“.

Ces diverses remarques critiques doivent être présentes à l'esprit lorsque l'on tente d'attribuer des densités de spin quantitatives aux différents atomes de l'isoalloxazine.

Elles concernent aussi l'alloxazine. Pour cette dernière molécule il faut ajouter que les paramètres relatifs aux couplages azote-électron et proton-électron dans le groupement H sont sans doute encore différents de ceux proposés jusqu'ici.



Nous utiliserons donc les formules et les valeurs suivantes des paramètres

formule (1)  $Q_{(N)H} = - 38,8 \text{ G}$  pour la configuration pliée  
 $Q_{(N)H} = - 32 \text{ G}$  pour la configuration plane  
 (déduite des valeurs expérimentales pour le cation du 4-4' dipyridyl [6]).

formule (3)  $Q_N = 25 \text{ G}$  pour l'atome  $N_1$  dans les formes énoliques.  
 $Q_N = 28 \text{ G}$  pour les autres azotes N (H) dans l'état d'hybridation  $sp^2$ .  
 $Q_N = 36 \text{ G}$  pour les atomes d'azote  $N_9$  et  $N_{10}$  dans les configurations pliées.

Si nous ne tenions pas compte des remarques de EHRENBERG et ERIKSSON [19], les valeurs précédentes des paramètres nous obligeraient à réviser légèrement les densités de spin proposées par GUZZO et TOLLIN [23]. Nous obtiendrions alors pour l'isoalloxazine (Fig. 2)

$\varrho_{N_1} = 0,26$  (la forme cétonique serait impossible)  
 $\varrho_{N_9} = 0,08$  pour la configuration plane,  $\varrho_{N_9} = 0,06$   
 pour les configurations pliées (au lieu de  $\varrho_{N_9} = 0,09$ )  
 $\varrho_{N_{10}} = 0,16$  pour la configuration plane,  $\varrho_{N_{10}} = 0,12$   
 pour les configurations pliées (au lieu de  $\varrho_{N_{10}} = 0,18$ ).

Pour l'alloxazine nous aurions  
 $\varrho_{N_9} = 0,14$  pour la configuration plane,  $\varrho_{N_9} = 0,10$   
 pour les configurations pliées (au lieu de 0,16)  
 $\varrho_{N_{10}} = 0,28$  pour la configuration plane, 0,20 pour les configurations pliées (au lieu de 0,31).

Il semble que c'est à ces valeurs que les résultats théoriques devraient être confrontés, si l'on acceptait l'interprétation qualitative de GUZZO et TOLLIN [23,24].

**II. Résultats théoriques.** Le pliage moléculaire amène des modifications considérables dans la répartition des densités de spin (Tab. 2 et 3). Ces modifications sont cependant d'une amplitude différente suivant les configurations moléculaires. La densité sur les atomes d'azote  $N_9$  et  $N_{10}$  est plus faible pour les configurations pliées que pour la configuration plane, mais l'abaissement est bien moindre

quand l'atome est dans la configuration „H intra“ que lorsqu'il est dans la configuration „H extra“. En même temps la densité sur l'atome de carbone bicyclique C<sub>12</sub> et sur l'atome d'azote N<sub>1</sub> tend à augmenter. Les formes énoïques et cétoniques ne présentent pas de différence notable.

D'une façon plus détaillée: les densités sur les atomes d'azote N<sub>9</sub> et N<sub>10</sub> sont un peu fortes pour la configuration plane et pliée H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> intra. Leur rapport est cependant meilleur dans cette dernière configuration. Le rapport  $\rho_9/\rho_{10}$  est mauvais (supérieur à 1) pour la configuration H<sub>9</sub> intra H<sub>10</sub> extra, et trop faible pour la

Tableau 2. Densités de spin dans le radical acide de l'isalloxazine (forme cétonique)

N° atome	Configuration				
	plane	pliée H <sub>9</sub> H <sub>10</sub> intra	pliée H <sub>9</sub> intra H <sub>10</sub> extra	pliée H <sub>9</sub> extra H <sub>10</sub> intra	pliée H <sub>9</sub> H <sub>10</sub> extra
1	0,047	0,092	0,136	0,182	0,262
2	0,001	0,000	0,000	0,001	0,000
3	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000
4	0,005	0,003	0,001	0,001	0,000
5	0,039	0,021	0,000	0,024	0,001
6	0,023	0,018	0,022	0,003	0,002
7	0,037	0,028	0,006	0,028	0,003
8	0,025	0,011	0,014	0,000	0,000
9	0,150	0,107	0,105	0,029	0,024
10	0,236	0,184	0,068	0,178	0,061
11	0,094	0,116	0,088	0,165	0,122
12	0,225	0,282	0,406	0,261	0,384
13	0,022	0,025	0,024	0,009	0,006
14	0,036	0,034	0,015	0,029	0,006
15	0,010	0,017	0,023	0,030	0,042
16	0,051	0,003	0,092	0,060	0,091

configuration H<sub>9</sub> extra H<sub>10</sub> intra (1/6). Dans la configuration H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> extra le rapport  $\rho_9/\rho_{10}$  est à peu près satisfaisant mais les valeurs absolues des densités sont trop faibles.

La densité en N<sub>1</sub>, faible pour la configuration plane, augmente avec le pliage. Elle reste très petite pour la configuration pliée H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> intra, mais elle atteint 0,148 pour la configuration pliée H<sub>9</sub> intra H<sub>10</sub> extra, et 0,155 pour la disposition inverse (formes énoïques). Dans la configuration H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> extra, la densité en N<sub>1</sub> devient très importante: 0,22 pour la forme énoïque, 0,26 pour la forme cétonique.

La répartition des densités de spin sur le cycle benzénique dépend très largement elle aussi de la configuration. GUZZO et TOLLIN [23] indiquent seulement une densité importante en C<sub>7</sub> (0,06). EHRENBURG et ERIKSSON ajoutent [19] qu'il existerait une concentration non négligeable en C<sub>5</sub> ou C<sub>8</sub>. Or la configuration plane donne des densités équivalentes en 5 et 7 (0,04) et 6 et 8 (0,03). La configuration H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> intra donne une répartition plus importante en C<sub>7</sub> (0,03) qu'en C<sub>6</sub> et C<sub>5</sub> (0,02), au détriment de la densité en C<sub>8</sub> (0,01). La configuration H<sub>9</sub> intra H<sub>10</sub> extra présente un déficit net en C<sub>5</sub> et C<sub>7</sub> tandis que la densité sur C<sub>6</sub> reste importante. Dans la disposition inverse (H<sub>9</sub> extra H<sub>10</sub> intra) la densité sur le cycle benzénique est presque exclusivement centrée en C<sub>7</sub> et C<sub>5</sub>. La densité est négligeable

Tableau 3. Densités de spin dans le radical acide de l'isoalloxazine (forme énolique)

N° atome	Configuration	plane		pliée			
		H <sub>9</sub>	H <sub>10</sub> intra	H <sub>9</sub> intra	H <sub>10</sub> extra	H <sub>9</sub> extra	H <sub>10</sub> intra
1		0,020	0,082	0,148	0,155	0,220	
2		0,041	0,048	0,042	0,063	0,052	
3		0,008	0,024	0,044	0,048	0,071	
4		0,009	0,005	0,003	0,004	0,002	
5		0,028	0,019	0,000	0,018	0,001	
6		0,025	0,012	0,010	0,001	0,000	
7		0,042	0,024	0,003	0,021	0,002	
8		0,033	0,008	0,006	0,000	0,000	
9		0,139	0,078	0,052	0,017	0,010	
10		0,220	0,163	0,052	0,142	0,040	
11		0,077	0,084	0,053	0,100	0,056	
12		0,200	0,278	0,386	0,256	0,345	
13		0,018	0,018	0,011	0,004	0,001	
14		0,034	0,028	0,007	0,021	0,002	
15		0,012	0,020	0,024	0,030	0,032	
16		0,072	0,108	0,158	0,119	0,164	

sur tout le cycle benzénique pour la configuration H<sub>9</sub> H<sub>10</sub> extra. De ce point de vue, il semble qu'il faille éliminer la configuration H<sub>9</sub> intra, H<sub>10</sub> extra et c'est la disposition inverse qui présenterait le meilleur accord avec l'expérience.

Il apparaît donc difficile, au vu de ces différents résultats et compte tenu de l'incertitude des données expérimentales, de déterminer de façon univoque la configuration pliée la plus vraisemblable, comme nous avons pu le faire avec la phénothiazine [35] et d'autres composés [34]. Si la forte densité attribuée à N<sub>1</sub> par GUZZO et TOLLIN se trouvait reconfirmée, il semble bien qu'il faille en chercher

Tableau 4. Densités de spin du radical dicationique de l'alloxazine

atome	Config.	Plane		Pliée H <sub>9</sub>			
		H <sub>9</sub>	H <sub>10</sub> intra	H <sub>9</sub> intra	H <sub>10</sub> extra	H <sub>9</sub> extra	H <sub>10</sub> intra
1		0,005	0,011	0,012	0,026	0,036	
2		,011	,007	,003	,001	,002	
3		,001	,002	,003	,008	,020	
4		,002	,002	,000	,001	,000	
5		,038	,023	,000	,035	,002	
6		,032	,030	,053	,009	,015	
7		,039	,035	,012	,052	,017	
8		,030	,016	,031	,000	,001	
9		,193	,162	,200	,063	,088	
10		,239	,200	,082	,231	,111	
11		,113	,148	,111	,248	,229	
12		,183	,212	,313	,176	,312	
13		,033	,044	,052	,031	,024	
14		,040	,048	,038	,051	,023	
15		,003	,003	,002	,005	,003	
16		,048	,059	,089	,058	,116	

Tableau 5. Radical cationique de l'isocallocazine: densités de spin de configurations pliées intermédiaires entre la configuration plane et la configuration pliée tétragonale  $H_9 H_{10}$  extra (première ligne) et entre la configuration pliée tétragonale  $H_9$  extra  $H_{10}$  intra (deuxième ligne); (formes cétoniques)

atomes Config.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
$H_9 H_{10}$ extra	0,188	0,052	0,062	0,001	0,003	0,004	0,007	0,001	0,038	0,096	0,085	0,287	0,007	0,008	0,033	0,130
$H_9$ extra $H_{10}$ intra	0,142	0,002	0,000	0,003	0,033	0,004	0,036	0,001	0,050	0,202	0,151	0,243	0,008	0,038	0,030	0,056

l'interprétation dans le pliage, conformément à notre hypothèse de départ, dans la disposition  $H_9 H_{10}$  extra, ou à la rigueur dans la disposition  $H_9$  extra,  $H_{10}$  intra. Ces deux dispositions présentent des écarts avec l'expérience, en particulier en ce qui concerne les densités  $\rho_9$  et  $\rho_{10}$ . Mais ces écarts sont susceptibles d'être réduits si l'on prend en considération des *plriages intermédiaires* entre la configuration plane et les configurations pliées limites. On trouvera par exemple dans le Tab. 5, l'effet d'un pliage intermédiaire entre la configuration plane et la configuration pliée  $H_9 H_{10}$  extra. On constate un accord relativement satisfaisant avec les résultats expérimentaux présentés par GUZZO et TOLLIN.

Au contraire, si l'on abandonne l'idée d'une grande densité de spin en  $N_1$ , l'information la plus importante que nous possédions, concerne le cycle benzénique. Nous avons montré que la configuration pliée  $H_9$  extra  $H_{10}$  intra était à ce point de vue la plus satisfaisante. La forte densité en  $N_1$  que présente cette configuration serait contradictoire avec l'expérience: mais nous savons que pour un état d'hybridation  $sp^2$  de l'azote, les densités des atomes de carbone voisins ( $C_2$  et  $C_{11}$ ), qui sont ici relativement importantes (cf. Tab. 2 et 3), interviennent dans la formule (3) avec un paramètre  $Q_2$  de signe contraire à celui de  $Q_1$ . Dans un tel cas, la densité non négligeable en  $N_1$  pourrait ne donner lieu qu'à un faible couplage.

EHRENBERG et ERIKSSON [19] ont montré par ailleurs que la substitution des protons du groupe-méthyl attaché à l'azote  $N_9$  par du deutérium, conduit à un spectre de faible résolution, ce qui tend à prouver que les interactions avec ces protons sont importantes. Nous pensons qu'un tel résultat peut s'interpréter, y compris dans une configuration „ $(CH_3)_9$  extra“, par le mécanisme suggéré plus haut d'une interaction du proton avec la densité de spin sur l'atome d'azote et sur les atomes de carbone voisins. Dans une telle hypothèse, les couplages  $a_{N,H}$  pourraient être différents entre eux et nettement différents du couplage  $a_{N_9}$ . La substitution isotopique de  $N_9$  par un noyau  $^{15}N$  permettrait peut-être une vérification de cette hypothèse.

L'hypothèse d'une configuration  $H_9$  extra  $H_{10}$  intra apparaît raisonnable si l'on se réfère aux encombrements stériques des divers substituants. En effet,

les composés radicalaires étudiés par les différents expérimentateurs sont tous des dérivés 9-substitués. Le groupement attaché à l'azote  $N_9$  peut difficilement, même dans le cas d'un méthyl, demeurer en position intra, entre les deux cycles latéraux. L'interprétation théorique des propriétés électroniques de la phénothiazine et de son dérivé N méthylé nous a permis d'avancer dans ce cas [34] que la phénothiazine non substituée aurait une configuration H intra et la N-méthylphénothiazine aurait une configuration  $(CH_3)_{10}$  extra. C'est pourquoi nous ne pensons pas devoir éliminer la configuration 9 extra, 10 intra dans les molécules étudiées par GUZZO et TOLLIN. Les écarts persistants pourraient provenir de certains gauchissements du squelette, assez vraisemblables dans le cas d'une molécule aussi grosse et aussi dissymétrique, le pliage étant moins fort, par exemple en  $N_9$  qu'en  $N_{10}$ . Le Tab. 5 présente une configuration pliée intermédiaire.

Pour le radical dicationique de l'alloxazine, nous rencontrons aussi certaines difficultés d'interprétation. La forte électronégativité de l'atome d'azote protonisé  $N_1$  exclut dans notre systématique une densité importante sur cet atome, quelle que soit la configuration. L'effet qualitatif est cependant le même que pour l'isalloxazine (Tab. 4). GUZZO et TOLLIN [24] n'ont pas déterminé par ailleurs quels étaient les protons du cycle benzénique responsables des deux interactions de 2,3 et 1,5 G. Nous savons seulement qu'il faut attribuer l'une à 6 ou 7 et l'autre à 5 ou 8. Les renseignements les plus sûrs concernent  $N_9$  et  $N_{10}$  qui donneraient lieu à des interactions de 3,9 et 7,8 G respectivement. Avec les valeurs des paramètres  $Q$  proposées plus haut, cela correspond à des densités de

$Q_{N_9} = 0,14$	pour la configuration plane,
0,11	pour la configuration pliée.
$Q_{N_{10}} = 0,29$	pour la configuration plane,
0,22	pour la configuration pliée.

Les résultats théoriques relatifs à la configuration plane donnent une densité excessive en  $N_9$  (0,19), et quatre densités équivalentes sur les protons du cycle benzénique. Elle est donc peu vraisemblable. Dans la configuration pliée  $H_9$   $H_{10}$  intra la densité  $Q_9$  est trop forte (0,16) et les atomes en 6 et 7 portent des densités équivalentes. La configuration  $H_9$  intra  $H_{10}$  extra est à rejeter pour ses mauvaises densités en  $N_9$  et  $N_{10}$ . La configuration  $H_9$  extra  $H_{10}$  intra présente une densité un peu faible en  $N_9$  et un peu forte en  $N_{10}$  (0,06 et 0,23) mais les densités de spin sur le cycle benzénique sont nettement localisées en  $C_5$  et  $C_7$ . Enfin, la disposition  $H_9$   $H_{10}$  extra semble mauvaise: la densité de spin est trop faible en  $N_{10}$  et équivalente en  $C_6$  et  $C_7$ .

Là encore l'interprétation n'est pas univoque dans l'état actuel de nos informations.

### Bibliographie

- [1] ATHERTON, N. M., F. GERSON et J. N. MURRELL: Mol. Physics 5, 509 (1962).
- [2] BAUDET, J., G. BERTHIER et B. PULLMAN: Comptes Rendus Acad. Sci. Paris 254, 762 (1962).
- [3] BEINERT, H.: Dans: „The Enzymes“; BOYER, P. D., M. LARDY, M. MYRBÄCK: Eds., Acad. Press, New York, (1960) vol. 2, p. 339.
- [4] —, et G. PALMER: Dans: „Enzyme Models and Enzyme Structure“ Brookhaven Symposia in Biology n° 15, Brookhaven National Laboratories, Upton, New York (1962) p. 229.

- [5] —, et R. H. SANDS: Dans: „Free Radicals in Biological Systems“; BLOIS Jr, M. S., H. W. BROWN, R. M. LEMMON, R. O. LINDBLOM, et WEISSBLUTH: Ed., Acad. Press, New York (1960) p. 17.
- [6] BOLTON, J. R., A. CARRINGTON et J. DOS SANTOS-VEIGA: Mol. Physics **5**, 465 (1962).
- [7] BOX, H. C., H. G. FREUND, et K. T. LILGA: J. chem. Physics **38**, 2100 (1963).
- [8] BRANDON, R. W., et B. LUCKEN: J. chem. Soc. **1961**, 4273.
- [9] CAMPBELL, I. G. M., C. G. Le FÈVRE, R. J. W. Le FÈVRE, and E. E. TURNER: J. chem. Soc. **1938**, 494.
- [10] CARRINGTON, A., et J. DOS SANTOS-VEIGA: Mol. Physics **5**, 21 (1962).
- [11] CLARK, W. M.; Dans: „Oxydation Reduction Potentials of Organic Systems“, Williams et Wilkin Co, Baltimore, (1960) p. 443.
- [12] COMMONER, B., J. J. HEISE, B. B. LIPPINCOTT, R. E. NORBERG, J. V. PASSONNEAU et J. TOWNSEND: Science **126**, 57 (1957).
- [13] —, et B. B. LIPPINCOTT: Proc. natl. Acad. Sci. USA. **44**, 1110 (1958).
- [14] —, B. B. LIPPINCOTT et J. V. PASSONNEAU: Proc. natl. Acad. Sci. USA. **44**, 1099 (1958).
- [15] — „Application à la Biochimie et à la Chimie Structurale de la Spectroscopie des Radiofréquences“ Mem. Acad. Roy. Bel. **33**, 114 (1961).
- [16] EHRENBERG, A.: Acta. chem. Scand. **14**, 766 (1960).
- [17] — Dans: „Free Radicals in Biological Systems“; BLOIS Jr., M. S., M. W. BROWN, R. M. LEMMON, R. O. LINDBLOM et M. WEISSELUTH: Eds., Acad. Press, New York, (1960) p. 337.
- [18] — Dans: „Electronic Aspects of Biochemistry“ Proceedings of an International Symposium Held in Ravello (Italy) sept. (1963); PULLMAN, B.: Ed., Acad. Press, sous presse.
- [19] —, et L. E. G. ERIKSSON: Archiv. Biochem. Biophysics, sous presse.
- [20] ERIKSSON, L. E. G., et A. EHRENBERG: Acta. chem. Scand., sous presse.
- [21] GRABE, B.: Biopolymers (1963) sous presse.
- [22] — Arkiv Fysik **17**, 97 (1960).
- [23] GUZZO, A. V., et G. TOLLIN: Arch. Biochem. Biophysics **103**, 231 (1963).
- [24] —, et G. TOLLIN: Arch. Biochem. Biophysics **103**, 244 (1963).
- [25] —, et G. TOLLIN: Arch. Biochem. Biophysics **105**, 380 (1964).
- [26] HEMMERICH, P.: Dans: „Mechanismen enzymatischer Reaktionen“, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer (1964).
- [27] HIGASHI, K.: Sc. Papers Inst. Phys. Chem. Research Tokyo **38**, 331 (1941).
- [28] HINZE, J.: Université de Cincinnati, Thèse (1962).
- [29] ISENBERG, I., S. L. BAIRD, et A. SZENT-GYORGYI: Proc. natl. Acad. Sci. U.S.A. **47**, 145 (1961).
- [30] KARPLUS, M., et G. K. FRAENKEL: J. chem. Physics **35**, 1312 (1961).
- [31] KARREMAN, G.: Bull. math. Biophysics **23**, 55 (1961).
- [32] KUBO, H., T. SHIGA, M. UOZUMI, and A. ISOMATO: Bull. Soc. Chim. biol. **45**, 219 (1963).
- [33] McCONNELL, H. M., et D. B. CHESNUT: J. chem. Physics **28**, 107 (1958).
- [34] MALRIEU, J. P.: J. Chim. physique, sous presse.
- [35] —, et B. PULLMAN: Theoretica chimica Acta **2**, 293 (1964).
- [36] MENNING, J. C. M., et C. de WAARD: Physics Letters **3**, 139 (1962).
- [37] PULLMAN, A. et B. PULLMAN: Compt. Rend. Acad. Sci. Paris **248**, 149 (1959).
- [38] PULLMAN, B. et A. PULLMAN: Proc. natl. Acad. Sci. U.S.A. **45**, 136 (1959).
- [39] —, et A. PULLMAN: Quantum Biochemistry, Interscience Publishers, New York, London (1963).
- [40] —, et A. PULLMAN: „Les théories électroniques de la Chimie Organique, Masson Ed., Paris (1952) p. 448.
- [41] SMYTH, C. P., W. S. WALLS: J. chem. Physics **1**, 337 (1933).
- [42] STONE, E. W., A. H. MAKI: J. chem. Physics **39**, 1635 (1963).
- [43] SZENT-GYORGYI, A.: Radiation Res., Supl. **2**, 4 (1960).
- [44] WARD, Jr., R. L.: J. Amer. chem. Soc. **84**, 332 (1962).
- [45] ZAHN, C. T.: Physic. Rev. **40**, 291 (1932).

(Manuscrit reçu le 23 juin 1964)