

ein Gemisch von Vierung ( $n = 2$ , „Cycloborazdien“) und Sechsring ( $n = 3$ , Borazol). Dabei wanderten der Phenylrest und der Rest R im Verhältnis  $x:y$  vom Bor- an das Stickstoffatom. Die Verseifung des Gemisches mit Kaliummethanolat in Methanol lieferte u. a. die freien Amine  $C_6H_5NH_2$  und  $RNH_2$ , die gaschromatographisch getrennt wurden. Dabei ergaben sich folgende Wanderungsverhältnisse, bezogen auf den Phenylrest als Standard: o-Tolyl = 1,55;  $\alpha$ -Naphthyl = 1,39; n-Butyl = 1,08; Phenyl = 1; Cyclohexyl = 1; p-Chlorphenyl = 0,70; p-Tolyl = 0,29.

Das Kalottenmodell von  $(C_6H_5)RBN_3$  zeigt, daß sich die Wirkungssphären von o-Tolyl,  $\alpha$ -Naphthyl und n-Butyl mit denen cis-ständiger Azidgruppen überlappen, so daß diese Reste bevorzugt die trans-Stellung einnehmen sollten. Dann folgt aber aus der starken Wanderungstendenz dieser Reste, daß die Azide nach einem Synchronmechanismus zerfallen. Der große Unterschied in der Wanderungstendenz der sterisch gleichwertigen Phenyl- und p-Tolylgruppe läßt sich deuten, indem man die Energie der zu lösenden B-C-Bindung und der zu bildenden N-C-Bindung als Parameter gelten läßt, welche die energetische Lage der Phenonium-Zwischenstufen bestimmen; da der Phenylrest stärker vom N-Atom, aber schwächer vom B-Atom gebunden wird als der p-Tolylrest, wandert er bevorzugt.

### Synthese von Zwischenstufen bei der bakteriellen Oxydation des Pyridoxins

E. E. Snell und D. Palm (Vortr.), Berkeley (USA) und München

Die papier- und säulenchromatographische Trennung der Zwischenstufen bei der bakteriellen Oxydation des Pyridoxins (1) durch *Pseudomonas* [92] lieferte keine ausreichenden Substanzmengen zum Studium der enzymatischen Teilreaktionen. Die Zwischenprodukte können jedoch durch chemischen Abbau gewonnen werden.

Die Oxydation von O-methyliertem (1) mit  $KMnO_4$  bei  $pH = 10$ , oder O-benzyliertem (1) in wäßrigem Pyridin ergibt 2-Methyl-3-alkoxypyridin-4,5-dicarbonsäuren (66 %). Diese lassen sich in Nitrobenzol bei  $180^\circ C$  spezifisch zu 2-Methyl-3-alkoxypyridin-5-carbonsäuren decarboxylieren. Durch Entmethylieren in  $HBr$ /Eisessig oder Entbenzylieren mit  $H_2$  erhält man 2-Methyl-3-hydroxypyridin-5-carbonsäure (2). 2-Methyl-3-hydroxypyridin-4,5-dicarbonsäure (3) wird in Nitrobenzol bei  $180$  bis  $200^\circ C$  unter  $N_2$  zu (2) und der isomeren 2-Methyl-3-hydroxypyridin-4-carbonsäure (4) decarboxyliert. Man trennt chromatographisch an Dowex-1-Formiat mit  $0,1$  bis  $2\ N\ HCOOH$ . Das nicht als Metabolit auftretende (4) [ $F_p = 302$  bis  $308^\circ C$  (Zers.); Rf-Wert (in tert.-Amylalkohol/Aceton/Wasser/Diäthylamin =  $40:35:20:5$ ) =  $0,79$ ;  $\lambda_{max} = 312\ m\mu$  (in  $0,1\ N\ HCl$ ), =  $307\ m\mu$  (in  $0,1\ N\ NaOH$ )] wurde durch Reduktion seines Methylesters zu dem bereits bekannten 2-Methyl-3-hydroxy-4-hydroxymethylpyridin identifiziert. Die Decarboxylierung von (3) zu (2) und (4) spielt eine Rolle zur Bestimmung des Einbaus radioaktiver Bausteine bei der Vitamin-B<sub>6</sub>-Biosynthese.

### Asymmetrische Oxynitril-Synthese an der Oxynitrilase des Emulsin-Komplexes

W. Becker und E. Pfeil (Vortr.), Marburg

Oxynitrilase, das Enzym des Emulsin-Komplexes, welches optisch aktives Mandelsäurenitril synthetisiert und spaltet, wurde aus bitteren Mandeln kristallin rein gewonnen. Es handelt sich um ein Flavoprotein ( $M \approx 80000$ ) mit Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) als prosthetischer Gruppe. Das Coenzym kann abgespalten werden; die Bruchstücke vereinigen sich wieder zum voll wirksamen Holoenzym.

Die Substratspezifität der Oxynitrilase ist gering. Das Enzym setzt aliphatische Aldehyde mit relativ geringer und

[92] E. E. Snell et al., J. biol. Chemistry 233, 1548, 1555 (1958); 235, 1164 (1960).

aromatische Aldehyde mit hoher Geschwindigkeit um. Substitution im Benzolring aromatischer Aldehyde kann die Reaktion sehr verlangsamen. Zimtaldehyd und Phenylacetaldehyd werden nicht umgesetzt; offenbar muß die Carbonylgruppe aus sterischen Gründen direkt am Benzolkern stehen. Die zu umsetzbaren Aldehyden gehörigen Säuren hemmen die Synthese optisch aktiven Oxynitrils, andere nicht. Aromatische Aldehyde, welche vom Enzym umgesetzt werden, löschen die Fluoreszenz des Riboflavins. Offenbar spielt daher die Wechselwirkung zwischen Substrat und Isalloxazin-System des Enzyms für die Oxynitril-Synthese eine Rolle. Aliphatische Aldehyde, die keine Fluoreszenzlösung bewirken, werden auch, aber wesentlich langsamer, umgesetzt. Die Bildungsgeschwindigkeit des optisch aktiven Oxynitrils ist maximal etwa bei  $pH = 6$ . Kinetische Messungen zeigten [93], daß der Verlauf der Aktivitäts-pH-Kurve durch die Protonierung eines basischen Zentrums bedingt ist, wodurch das Enzym gehemmt wird. Der mit steigendem pH-Wert beobachtete Abfall der Ausbeute an optisch aktivem Oxynitril läßt sich auf dessen unkatalysierte Racemisierung zurückführen. Reaktionsschema: Der Aldehyd wird durch Dreipunktfixierung der Carbonylgruppe an das Enzym angelagert, (Polarisation der C=O-Doppelbindung des Aldehyds  $-C^{\delta+}=O^{\delta-}$ ), das angreifende  $CN^-$ -Ion kann also nur von einer Seite herantreten (= stereospezifische Synthese). Aromatische Aldehyde werden zusätzlich durch  $\pi$ -Austauschkräfte (Fluoreszenzlösung) auf dem ebenen Ringsystem des Flavins fixiert (weitere Aktivierung der C=O-Gruppe durch Elektronen-Abzug aus dem aromatischen System). Der Zerfall des Enzym-Substrat-Komplexes ist geschwindigkeitsbestimmend, indem Cyanid-Ionen und Protonen von der aktivierenden Base auf die aktivierte Carbonylgruppe übertragen werden.

### Sind $\alpha$ - und $\gamma$ -Hydroxy-Derivate von sechsgliedrigen Stickstoff-Heterocyclen heteroaromatisch?

W. Pfeleiderer, Stuttgart

Die aus Reaktivitätsbetrachtungen abgeleiteten Vorstellungen, daß in sechsgliedrigen Stickstoff-Heterocyclen der heteroaromatische Charakter durch die Einführung von  $\alpha$ - oder  $\gamma$ -ständigen Hydroxygruppen zunimmt, werden auf der Basis von pK-Wert-Messungen, Protonenresonanzspektren und Betrachtungen über die Lage von Tautomeriegleichgewicht neu diskutiert.

Die experimentellen Befunde am Pyrimidinsystem müssen übereinstimmend so interpretiert werden, daß in den Hydroxy-Derivaten, die überwiegend als cyclische Säureamide vorliegen, eine stärkere Lokalisierung von  $\pi$ -Elektronen und daher ein abgeschwächter Ringstrom vorhanden sind. Im cyclisch konjugierten System unterbricht die Lactamgruppierung auf Grund ihrer Eigenmesomerie den cyclischen Elektronenfluß. Cyclische Amide sind somit weniger aromatisch als ihre Grundkörper, wenngleich ihre erhöhte Reaktivität gegenüber elektrophilen Agenzien auf Grund eines starken elektromeren Effektes der Lactamgruppe zu einer entgegengesetzten Deutung verleitet.

### Oxydation des Indazolinons

H. Plieninger (Vortr.) und Hannelore Zoche, Heidelberg

Bei der Oxydation des Indazolinons (1) mit Kaliumpermanganat, Mangandioxyd oder Bleitetraacetat entsteht das unbeständige Indazolone (2), das unter Stickstoff-Abspaltung in Benzoesäure übergeht [94]. Die Reaktion verläuft nicht über das Cyclopropenon-Derivat (3), da aus (4) ausschließlich

[93] Unveröffentlichte Versuche.

[94] E. F. Ullman u. E. A. Bartkus [Chem. and Ind. 1962, 93] haben bei der Oxydation von (1) mit Bleitetraacetat in Acetonitril bei tiefer Temperatur eine Lösung von (2) erhalten und konnten dieses mit Butadien abfangen.