

Modelluntersuchungen zum Mechanismus der mikrosomalen Hydroxylierung

Hj. Staudinger und V. Ullrich, Gießen

GDCh-Ortsverband Saar, Saarbrücken am 21. Mai 1965

Im Stoffwechsel der Steroide und der Aminosäuren sowie beim Abbau von Fremdstoffen kommen Reaktionen vor, die als Substitutionen eines Wasserstoffatoms durch eine Hydroxygruppe aufzufassen sind. Diese Reaktionen benötigen molekularen Sauerstoff und ein Reduktionsmittel. Gleichartige Reaktionen liegen der oxydativen Desaminierung, den Desalkylierungen, den N-Oxydationen und anderen oxydativen Entgiftungsreaktionen zugrunde. Die Enzyme, die solche Reaktionen katalysieren, nennt man „mischfunktionelle Oxygenasen“. Sie kommen vorwiegend im endoplasmatischen Retikulum (Mikrosomen) der Leberzellen vor.

Zur Klärung des Oxygenierungsmechanismus wurden Modellsysteme herangezogen. Diesen Systemen ist gemeinsam, daß das O_2 -Molekül mit Eielektronendonatoren, z. B. Schwermetallionen ($Fe^{2+}/P_2O_7^{4-}$; $Fe^{2+}/EDTA$; Cu^+ ; Ti^{3+} ; Sn^{2+}) oder auch mit organischen Reduktionsmitteln (reduziertes Flavin, Leukomethylenblau, Dihydroxyfumarat-Radikal) schrittweise reduziert wird [1,2]. Durch die Untersuchung der Hydroxylierungsprodukte verschiedener Substrate läßt sich nachweisen, daß bei der Reduktion des molekularen Sauerstoffs zwei Hydroxylierungsmechanismen nebeneinander auftreten können [3,4]. Einer von ihnen verläuft über OH-Radikale [5]. Beim zweiten Mechanismus entsteht aus dem primär gebildeten O_2H -Radikal ein Sauerstoffatom als hydroxylierendes Agens, das direkt in die C-H-Bindungen eines Substrates eingebaut wird. Wegen weitgehender Analogie zu den Carben-Reaktionen wird der Begriff „Oxen-Hydroxylierungen“ vorgeschlagen. Auf diesem Weg wird z. B. Cyclohexan zu Cyclohexanol, Naphthalin vorwiegend zum 1,2-Dihydrodiol hydroxyliert.

Typisch für einen Angriff der O-Atome sind ferner die oxydative Desaminierung von Phenäthylamin oder die Desalkylierung von Phenacetin. Diese Reaktionen verlaufen nicht mit OH-Radikalen. Dagegen entstehen die gleichen Produkte beim Abbau der genannten Verbindungen durch die mischfunktionellen Oxygenasen in Lebermikrosomen. Diese und weitere Parallelen machen es wahrscheinlich, daß die mikrosomalen mischfunktionellen Oxygenierungen in der Zelle ähnlich ablaufen wie die Oxen-Hydroxylierungen in den Modellsystemen. Allerdings muß für die enzymatischen Reaktionen eine Stabilisierung der reaktionsfähigen Stufe des

Sauerstoffatoms an Eisen(III) oder Kupfer(II) angenommen werden. [VB 936]

[1] V. Ullrich, Dissertation, Universität Gießen, 1964.

[2] Hj. Staudinger u. V. Ullrich, Biochem. Z. 339, 491 (1964).

[3] Hj. Staudinger u. V. Ullrich, Z. Naturforsch. 19b, 409 (1964).

[4] Hj. Staudinger u. V. Ullrich, Z. Naturforsch. 19b, 877 (1964).

[5] R. O. C. Norman u. G. K. Radda, Proc. chem. Soc. (London) 1962, 138.

Beweglichkeit adsorbierter Moleküle an Festkörper-Oberflächen

R. Haul, Hannover

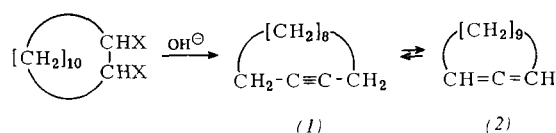
GDCh-Ortsverband Braunschweig, am 28. Juni 1965

Eine wichtige Größe zur Kennzeichnung der Wechselwirkung zwischen Festkörperoberflächen und adsorbierten Molekülen ist deren Verweilzeit an der Oberfläche. Die Verweilzeit kann aus der Verzögerung des Anlaufvorganges einer Molekular- (Knudsen-) Strömung ermittelt werden. Hierzu wurde beispielsweise die nicht-stationäre Strömung von Argon, Krypton und Xenon durch eine Pyrex-Glaskapillare zwischen 80 °K und Zimmertemperatur mit Ionisationsmanometern registriert. Die Messungen wurden unter Ultrahochvakuum ausgeführt, um Verweilzeiten physisorbierter Moleküle gerade auch bei relativ geringen Oberflächenbedeckungsgraden ($\Theta = 10^{-3}$ bis 10^{-1}) zu erfassen.

Die aus den Strömungsversuchen erhaltenen Adsorptionsisothermen sind infolge der energetischen Heterogenität der Oberfläche nicht-linear und genügen der Gleichung von Radushkevich-Dubin. Unter Zugrundelegung dieser Adsorptionsisotherme gelingt es, differentielle Verweilzeiten $\tau = \tau_0 \cdot e^{E/RT}$ zu ermitteln. Beispielsweise wurde bei $\Theta = 0,01$ für τ_0 [sec] und E [kcal/Mol] gefunden: Argon $3 \cdot 10^{-14}$ bzw. 3,6; Krypton $1 \cdot 10^{-13}$ bzw. 4,4 sowie Xenon $1 \cdot 10^{-13}$ bzw. 5,5. Mit zunehmendem Bedeckungsgrad nimmt der präexponentielle Faktor $\tau_0 = 1/\nu_0$ um mehrere Zehnerpotenzen zu. Zwischen ν_0 und der Aktivierungsenergie E besteht also ein Zusammenhang im Sinne des Kompensationseffektes. Diese Erscheinung wird dadurch erklärt, daß die Moleküle nicht nur unmittelbar, sondern zum Teil erst nach wiederholtem Platzwechsel auf der Oberfläche desorbiert werden. Dies ergibt sich ebenfalls aus Entropiebetrachtungen. Die Oberflächenbeweglichkeit physisorbierter Moleküle kann man auch aus Untersuchungen über den Stofftransport in porösen Medien ableiten. [VB 943]

RUNDSCHAU

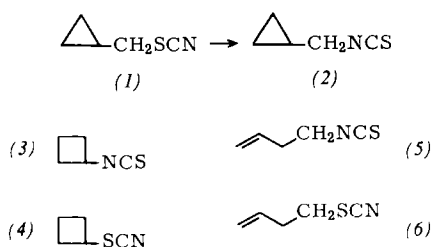
Vorteilhafte Synthesen von Cyclododecin, cis-Cyclododecen, 1,2-Cyclododecadien und 1,3-cis,trans-Cyclododecadien geben W. Ziegenbein und W. M. Schneider an. 1,2-Dichlorcyclododecan und alkoholisches Alkalihydroxyd liefern bei 120 bis 150 °C im Autoklaven in > 70% Ausbeute Cyclododecin (1). Bei höherer Temperatur entsteht zunehmend 1,2-Cyclododecadien (2). Hydrierung von (1) mit Diisobutylaluminiumhydrid führt selektiv zu cis-Cyclododecen. 1,3-cis,trans-Cyclododecadien wird in guter Ausbeute durch Pyrolyse von 1,2-Bis-(acetoxy)-cyclododecan bei 500 °C und 20 Torr erhalten.



Es entsteht ferner aus 1,2-Dibromcyclododecan und Chinolin (Nebenprodukte: cis- und trans-Cyclodecen). / Chem. Ber. 98, 824 (1965) / -Ma. [Rd 286]

Das selektive Reduktionsvermögen von Boran - Carbonyl-Derivaten untersuchten R. D. Shoup und J. C. Carter. $[\text{NH}_3\text{CH}_3]^\oplus [\text{H}_3\text{BCONHCH}_3]^\ominus$ kann Aldehyde, Ketone, Säurechloride, Pyridiniumsalze und Oxyde reduzieren. Als Lösungsmittel dienen Wasser, Tetrahydrofuran und 1,2-Dimethoxyäthan, in dem die Reduktionen etwas weniger intensiv, aber selektiver verlaufen. Bei der Reduktion sind die drei H-Atome am Bor wirksam. Interessant sind die Reduktion des Pyridiniumringes in 1,4- und 1,2-Stellung, die stereoselektive von 3,3,5-Trimethylcyclohexanon unter Bildung von 3- bis 4mal mehr trans- als cis-Alkohol und die zu 90–95% selektive Reduktion eines Aldehyds in Gegenwart eines Ketons. $[\text{NH}_2(\text{CH}_3)_2]^\oplus [\text{H}_3\text{BCON}(\text{CH}_3)_2]^\ominus$ reduziert schwächer als das erste Reagens, zeigt aber in Gegenwart von Ketonen stark selektives Reduktionsvermögen für Aldehyde. 3,3,5-Trimethylcyclohexanon wird bevorzugt in den trans-Alkohol übergeführt. Nitril-, Olefin- oder Estergruppen werden von diesen Reagentien nicht reduziert. / 149. Meeting Amer. chem. Soc. 1965, 49 P / -Ma. [Rd 328]

Die thermische Isomerisierung von Thiocyanmethyl-cyclopropan (1) gibt nach P. E. Newallis und L. A. Spurlock die Verbindungen (2)–(6). Dies ist das erste Beispiel für C-

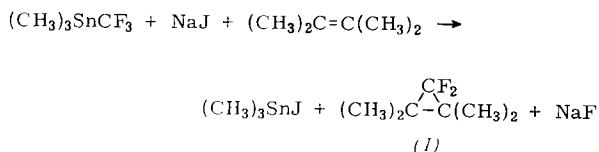


Gerüstumlagerungen, die gleichzeitig mit einer Thiocyanat-Isothiocyanat-Isomerisierung einhergehen. / Abstracts 149. Meeting Amer. chem. Soc. 1965, 29 P / –Ma. [Rd 329]

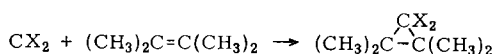
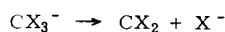
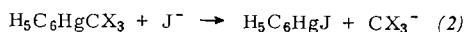
Die Spektroskopie im fernen Infrarot bei der Analyse von Hochpolymeren, Harzen, Monomeren und Weichmachern empfiehlt D. Hummel als Ergänzung zur Spektroskopie im mittleren Infrarot. Die Spektren im fernen Infrarot (zwischen 700 und 250 cm⁻¹) sind besonders empfindlich gegen Änderungen der inner- und zwischenmolekularen Kräfte und deshalb wertvoll bei der Prüfung von Konformation und Kristallinität in Hochpolymeren. Während stark polare und kristalline Stoffe meist bandenreiche und verhältnismäßig intensive Spektren im fernen Infrarot zeigen, liefern amorphe Harze oft wenig ausgeprägte Spektren. Da das Licht an trüben Proben im fernen Infrarot weniger gestreut wird als im mittleren Infrarot, wird die Meßtechnik oft wesentlich vereinfacht. / Kunststoffe 55, 102 (1965) / –Hl. [Rd 296]

Die radiochemische Bestimmung endständigen Lithiums in Polymeren gelingt nach D. R. Campbell und W. C. Warner durch Umsetzung mit tritiierten Alkoholen. Lithium wird gegen das Tritium der alkoholischen Hydroxygruppe ausgetauscht, überschüssiger Alkohol durch Waschen mit Wasser entfernt und der Gehalt an markierten Endgruppen radiochemisch bestimmt. Dies Verfahren liefert gut übereinstimmende Werte mit der Lithiumbestimmung durch Carbonisierung. Bei Verwendung von Alkoholen, die bis zu 4 C-Atome enthalten, und Temperaturen zwischen 25 und 65 °C, liegen die Ergebnisse innerhalb der experimentellen Fehlergrenze. / Analytic. Chem. 37, 276 (1965) / –Hl. [Rd 297]

Eine neue Methode zur Erzeugung von Dihalogencarben aus metallorganischen Verbindungen unter milden Bedingungen und mit sehr guten Ausbeuten geben D. Seyferth, J. Yick-Pui Mui, M. E. Gordon und J. M. Burlitch an. Beim Erwärmen von (CH₃)₃SnCF₃ und NaJ mit Cyclohexen in 1.2-Dimethoxyäthan unter N₂ auf 80 °C (12 Std.) werden 73 % 7,7-Difluorbicyclo[4.1.0]heptan gebildet, in Gegenwart von Tetra-

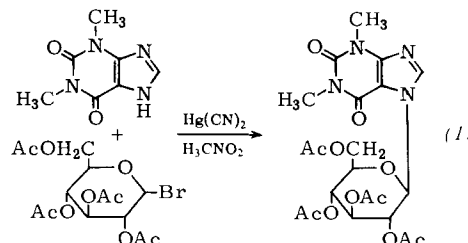


methyläthylen 77 % 1.1-Difluortetramethylcyclopropan (1). Mit H₅C₆HgCCl₂Br entsteht in Gegenwart von Cyclohexen bei 30 °C (48 Std.) analog 7,7-Dichlorbicyclo[4.1.0]heptan (72 %). Hierbei wird intermediär ein Trihalogenmethid-Ion, CX₃⁻ (2), gebildet.



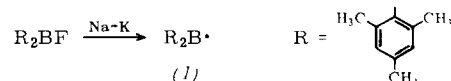
H₅C₆HgCCl₂Br, NaJ und Acrylnitril liefern bei Raumtemperatur in 1.2-Dimethoxyäthan 1.1-Dichlor-2-cyancyclopropan (16 %), Bromdichlormethan (28,5 %) und 4-Brom-4-dichlorbutyronitril (2 %). / J. Amer. chem. Soc. 87, 681 (1965) / –Ma. [Rd 288]

Eine neue Synthese von Nucleosiden und analogen Verbindungen gelang N. Yamaoka, K. Aso und K. Matsuda durch Kondensation heterocyclischer Iminoverbindungen wie Acylaminopurine, Chlorpurine, Theophyllin, N⁶-Benzoylcytosin und Benzimidazol mit Acylglykosylhalogeniden in Nitromethan in Gegenwart von Halogenwasserstoff-Acceptoren (z. B. Ag₂O, Hg(CN)₂, Zn(CN)₂, AgCN oder KCN). Durch mehrstündiges Erhitzen unter Feuchtigkeitsausschluß (Drierite) entstehen die kristallinen acylierten Nucleoside. So ist z. B.



7-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-theophyllin (1), Fp = 167 °C (aus Äthanol), in 94-proz. Ausbeute erhältlich. / J. org. Chemistry 30, 149 (1965) / –De. [Rd 292]

Freie Arylbor-Radikale erhielten J. E. Leffler, E. Dolan und T. Tanigaki. Dimesitylborfluorid reagiert in 1.2-Dimethoxyäthan mit Na-K-Legierung zum Dimesitylbor-Radikal (1), das im entgasten Lösungsmittel mindestens 4 Monate haltbar



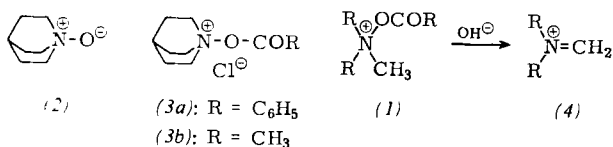
ist, wie das ESR-Spektrum zeigt. Trimesitylbor reagiert ebenfalls mit Alkalimetallen in Dimethoxyäthan oder Tetrahydrofuran unter Radikalbildung (blaue Lösung). Bei weiterem Umsatz mit Alkalimetall oder Na-Hg in Tetrahydrofuran werden Arylgruppen abgespalten, und das ESR-Spektrum stimmt dann mit dem Spektrum von (1) überein. / J. Amer. chem. Soc. 87, 927 (1965) / –Ma. [Rd 290]

Die Halogenierung aromatischer Verbindungen mit N-Bromsuccinimid und N-Chlorsuccinimid unter ionischen Bedingungen untersuchten F. L. Lambert, W. D. Ellis und R. J. Parry. Man erwärmt die Aromaten (100 ml) im Gemisch mit verdünnter H₂SO₄ (200 ml konz. H₂SO₄, verdünnt auf 20 bis 66 %) und dem N-Halogenimid (0,16 Mol) 1 bis 4 Std. auf 45–90 °C und erhält kernsubstituierte Monohalogenenderivate (Ausbeuten 64–95 %); höher halogenierte oder benzyl-substituierte Produkte treten praktisch nicht auf. Größere Mengen freien Broms bzw. Chlors werden vermieden. – Beispiele: Benzol gibt 90 % Brombenzol, 64 % Chlorbenzol. Toluol gibt 95 % Bromtoluol (Isomerenverhältnis: o : m : p = 67 : 2 : 31), 93 % Chlortoluol (mit sehr ähnlichem Isomerenverhältnis). Nitrobenzol liefert 70 % Bromnitrobenzol, Chlorbenzol 94 % Chlorbrombenzol sowie 80 % Dichlorbenzol. Als angreifendes Agens darf möglicherweise die protonierte N-Halogenverbindung angesehen werden. / J. org. Chemistry 30, 304 (1965) / –Bi. [Rd 298]

Fluorenyl-lithium-Solvens-Addukte erforschten J. A. Dixon, P. A. Gwinner und D. C. Lini NMR-spektroskopisch. In den Lösungen, die bei Einwirkung von Lithium auf Fluoren in Tetrahydrofuran (THF) und Dimethoxyäthan (DME) entstehen, erzeugt Heptan Niederschläge von solvatisiertem Fluorenyl-lithium, die auch bei Drucken < 1 Torr in 48 Std. das im Kristall gebundene Solvens nicht abgeben. Die Komplexe, in C₆D₆ gelöst, geben NMR-Spektren, deren in-

tegrierte Signale die Zusammensetzungen $\text{RLi} \cdot 3\text{THF}$ bzw. $\text{RLi} \cdot 1\text{DME}$ ($\text{R} = 9\text{-Fluorenyl}$) anzeigen. Das komplex gebundene THF zeigte gegenüber ungebundenem nach höheren Feldern verschobene Signale für α - und β -Protonen. Bei DME waren zudem die relativen Lagen der Methyl- und Methylenprotonen im gebundenen und ungebundenen Zustand vertauscht. Bei der Donor-Acceptor-Wechselwirkung zwischen Kation und Äthermolekel wäre umgekehrt mit einer Verschiebung nach niedrigeren Feldern zu rechnen gewesen. Die ^7Li -Resonanz lag bei höheren Feldstärken (3 ppm für den THF-Komplex) als in wäßrigen Lösungen anorganischer Lithiumsalze. Es wurde gefolgert, daß das solvatisierte Lithiumkation über der Ebene des aromatischen Carbanions angeordnet ist und dabei in den Abschirmungsbereich des Ringstroms gerät. / J. Amer. chem. Soc. 87, 1379 (1965) / -Eb. [Rd 343]

N-Acyloxy-ammonium-Salze (1) stellten R. Huisgen und W. Kolbeck dar. Wasserfreies Chinuclidin-N-oxyl (2) und Benzoylchlorid oder Acetylchlorid in Benzol geben die farblosen Salze (3a) bzw. (3b) (Ausbeute 89–91%). Das NMR-Spektrum zeigt das intakte bicyclische Gerüst an. (3a) ist im neutralen und sauren Bereich überraschend hydrolysestabil, gegen Alkali aber sehr empfindlich. Anilin wird in der Kälte von (3a)

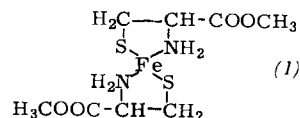


benzoyliert, wobei (2) frei wird. Das entsprechende N-Tosyloxy-chinuclidiniumchlorid ist nur bei -20°C im kristallinen Zustand haltbar, das Hexachloroantimonat dagegen bei Zimmertemperatur beständig. Durch die Verwendung eines Brückenkopfaminooxyds wie (2) ist die sonst von (1) zum Immonium-Ion (4) führende basenkatalysierte Reaktion unterbunden. / Tetrahedron Letters 1965, 783 / -Ma. [Rd 289]

Tetrakis-(8-hydroxychinolyl)-zinn(IV), ein Chelat der Koordinationszahl 8, beschreiben K. Ramaiah und D. F. Martin. Die Verbindung wurde aus Diphenyl-bis-(8-hydroxychinolyl)-zinn(IV) und überschüssigem 8-Hydroxychinolin (Ox) durch Spaltung der Zinn-Phenyl-Bindung bei 300°C erhalten. Die ziegelrote Substanz ($\text{Fp} > 400^\circ\text{C}$) wurde durch Waschen mit Äther und Toluol sowie anschließende Vakuumsublimation gereinigt. Die Eigenschaften der Verbindung entsprechen denen, die bei einem Chelat mit achtfach koordiniertem Zinn erwartet werden. Leitfähigkeitsmessungen in Nitrobenzol schließen eine Ionen-Struktur $[\text{Sn}(\text{Ox})_3]^+\text{Ox}^-$ aus. In Acridin-Lösung liegt das Chelat monomer vor. Die polarographische Untersuchung ergab zwei Reduktionsstufen, die mit denen des Diphenyl-zinnchlorids übereinstimmen. Das IR-Absorptionsspektrum, die thermische Stabilität und die Beständigkeit gegenüber einer Methylierung am Stickstoff machen wahrscheinlich, daß koordinative Bindungen zwischen Chinolinstickstoff und Zinn vorliegen. / Chem. Commun. 1965, 130 / -Gn. [Rd 366]

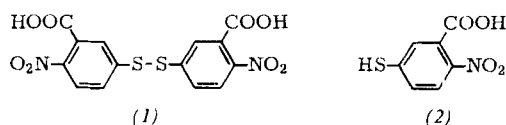
Die selektive Hydrolyse von Aspartatbindungen in tryptischen Peptiden gelang C. M. Tsung und H. Fraenkel-Konrat. In 0,03 N HCl bei 105°C werden in 16 Stunden alle Aspartatreste als freie Asparaginsäure abgespalten, dazu etwa 50% der Aspartatreste aus Asparagin. Alle anderen Aminosäuren werden so gut wie nicht abhydrolysiert. Kinetische Messungen zeigten, daß der Hydrolyse von Peptidbindungen, an denen Asparagin beteiligt ist, die Ammoniakabspaltung zum Aspartat vorausgeht. Die Hydrolysegeschwindigkeit der Aspartat-Peptidbindungen wird durch die Art der benachbarten Aminosäuren nicht beeinflusst. Endprodukte sind neben Ammoniumionen und Asparaginsäure aspartat- und asparaginfreie Peptide. Die Methode dürfte ein gutes Hilfsmittel der Sequenzanalyse sein. / Biochemistry 4, 793 (1965) / -Hö. [Rd 368]

Den Eisen(II)-Cystein-Komplex im Ferredoxin untersuchten E. Bayer, W. Parr und B. Kazmeier. Als Modellsubstanz wurde der Eisen(II)-Komplex des Cysteinmethylesters (1) dargestellt. Die Übereinstimmung der spektroskopischen Daten von (1) und Ferredoxin ($\lambda_{\text{max}} = 390$ und 280 bzw. 390 und $285 \text{ m}\mu$) macht eine übereinstimmende Anordnung der



Eisen(II)-Ionen im Ferredoxin wahrscheinlich. Der beim Ansäuern des Ferredoxins freiwerdende Schwefelwasserstoff ist nicht als „anorganisches Sulfid“ gebunden, sondern entsteht durch eisen(II)-katalysierte β -Eliminierung aus dem Cystein des Peptids. Die Modellverbindungen N-Benzoyl-cysteinmethylester und Cysteinmethylester verhalten sich hier wie das Ferredoxin. Während die Benzoylverbindung auch in Abwesenheit von Eisen(II)-Ionen beim Ansäuern H_2S entwickelt, reagiert der Cysteinmethylester nur in Anwesenheit von Eisen, was dessen katalytische Aktivität anzeigt. Reines Apoferreredoxin konnte durch Abspaltung des Eisens mit α,α' -Dipyridyl in natriumdithionit-haltiger Lösung hergestellt werden. In Gegenwart von Eisen(II)-Ionen war Apoferreredoxin im enzymatischen Test voll aktiv. / Arch. Pharmaz. 298, 196 (1965) / -Hö. [Rd 371]

Eine colorimetrische Mikromethode zur Glutathionbestimmung entwickelten C. W. Owens und R. V. Belcher. Für eine Bestimmung genügen 30 mg Gewebe, die homogenisiert und durch eine Glasfilternutsche gefiltert werden. In der Küvette werden Phosphatpuffer ($\text{pH} = 7,1$), 5,5'-Dithio-bis-(2-nitrobenzoesäure) (1), Äthylendiamintetraacetat und das glutathionhaltige Filtrat zusammengegeben. Die Reaktion wird mit TPNH gestartet und besteht in einer Reduktion des Disulfids (1) zur 5-Mercapto-2-nitrobenzoesäure (2) durch katalytische Mengen Glutathion (GSH). Man verfolgt die



Zunahme der Extinktion von (2) bei $412 \text{ m}\mu$, deren Geschwindigkeit der GSH-Konzentration proportional ist. Wahrscheinlich handelt es sich um einen Reduktionszyklus: GSH reagiert mit (1) zu einem Molekül (2) und einem gemischten Disulfid, das dann mit GSH zu (2) und GSSG weiterreagiert. GSSG wird mit TPNH an der Glutathionreduktase unter Regeneration des GSH reduziert. / Biochemical J. 94, 705 (1965) / -Hö. [Rd 319]

Den Repressor der β -Galaktosidase-Synthese in *Escherichia coli* untersuchten J. R. Sadler und A. Novick. Dies wurde durch die Isolierung von Mutanten möglich, die einen labilen Repressor synthetisieren; die Repression der β -Galaktosidase-Bildung konnte in einer Bakterienkultur bereits durch kurzes Erwärmen aufgehoben werden. Diese „Derepression“ verlief wie die Reaktion nach Zusatz eines Induktors, z. B. Isopropyl-thiogalaktosid. In Gegenwart des Induktors wird der Repressor thermolabiler. Entsprechend den Vorstellungen vom Monod [1] wird angenommen, daß die Bindung des Induktors an den Repressor eine Konformationsänderung des Repressors verursacht, durch die seine Bindungsstelle für das Lac-Operon inaktiviert wird. Demnach wären Repressoren zu den allosterischen Proteinen zu rechnen. / J. molecular Biol. 12, 305 (1965) / -Hö. [Rd 369]

[1] J. Monod, J. P. Changeux u. F. Jakob, J. molecular Biol. 6, 306 (1963).