

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

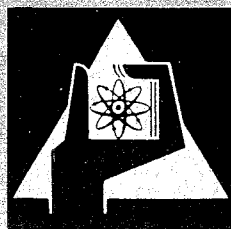
März 1969

KFK 943

Institut für Strahlenbiologie

Elektronenspin-Resonanz freier Radikale in bestrahlten Einkristallen
von 5-Halo-Uracil-Derivaten, Desoxyribose und
weiteren Nukleinsäurekomponenten

J. Hüttermann



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE

Als Manuskript vervielfältigt

Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.
KARLSRUHE

Kernforschungszentrum Karlsruhe

März 1969

KFK 943

Institut für Strahlenbiologie

Elektronenspin-Resonanz freier Radikale in bestrahlten
Einkristallen von 5-Halo-Uracil-Derivaten, Desoxyribose
und weiteren Nukleinsäurekomponenten

Jürgen Hüttermann

Gesellschaft für Kernforschung m.b.H., Karlsruhe

1912

...

...

...

...

...

...

...

...

...

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung und Problemstellung	1
II. Experimenteller Teil	5
1. Kristallisation der Nukleinsäure-Komponenten	5
2. Bestrahlung und ESR-Messung	7
III. Theoretischer Teil	9
1. Grundlagen	9
2. Der Tensor \underline{g}	10
3. Der Hyperfein-Tensor \underline{A}	12
4. Der Quadrupol-Tensor \underline{P}	16
IV. Ergebnisse und Diskussion	17
1. Purin-Derivate	17
A. Adenin·HCl	17
B. Adenosin-5'-Phosphat	18
C. Diskussion	19
2. 5-Halo-Uracil-Derivate	21
A. Allgemeine Ergebnisse	21
B. Die Linien-Gruppe A in 5-Bromuracil, 5-Bromdesoxyuridin und 5-Joddesoxyuridin	23
C. Diskussion	26
D. Die Linien-Gruppe B in 5-Bromdesoxyuridin und 5-Joddesoxyuridin	29
E. Die Linien-Gruppe B in 5-Bromuracil	35
3. β -2-Desoxy-D-Ribose	37
4. Zusammenfassende Diskussion	43
V. Zusammenfassung	49
VI. Literaturverzeichnis	51
VII. Abbildungen	60

I. Einleitung und Problemstellung

Bei der Einwirkung von Strahlung auf organische und biologische Materie werden, neben einer großen Zahl anderer Produkte, freie Radikale in diesen Objekten erzeugt. Dies wurde von Combrisson und Uebersfeld (1954) und, ausführlich, von Gordy, Ard und Shields (1955) an einer Reihe biochemischer Substanzen nachgewiesen. In ganzen biologischen Organismen konnten Zimmer, Ehrenberg und Ehrenberg (1957) freie Radikale nach Bestrahlung beobachten. Es lag daher der Schluß nahe, durch Untersuchungen der strahlen-erzeugten Radikale Beiträge zur Aufklärung der Mechanismen der Strahlenwirkung auf biologische Objekte zu erhalten. Nach Platzman (1958) und Hart und Platzman (1961) werden die nach der Absorption der Strahlung in biologischen Systemen ablaufenden Vorgänge in verschiedene zeitliche Phasen, entsprechend der Lebensdauer der durch die Strahlung induzierten Veränderungen, eingeteilt. Die Radikalerzeugung findet in der physiko-chemischen und der chemischen Phase statt, deren Zeiten etwa 10^{-10} sec und 10^{-6} sec betragen und gehört zu den Primärmechanismen der Strahlenwirkung.

Zum Nachweis freier Radikale wird nahezu ausschließlich die Elektronen-Spin-Resonanz (ESR)-Spektroskopie benutzt. Im allgemeinen gestattet diese Methode nur die Messung langlebiger Radikale, deren Verknüpfung mit primär erzeugten, schnell reagierenden Radikalen bislang nicht befriedigend geklärt ist. Ausführliche quantitative ESR-Untersuchungen an bestrahlten trockenen biologischen Systemen ergaben jedoch, daß die beobachteten stabilisierten Radikale auf Grund ihrer Ausbeute einen bedeutenden Beitrag zum Strahlenschaden liefern dürften (Müller, 1964). Zudem hängt die Lebensdauer radikalischer Zustände erheblich vom umgebenden Milieu ab, so daß es bei Substanzen im festen Zustand häufig gerechtfertigt ist, auch langlebige Radikale zu den Primärprodukten der Strahlenwirkung zu rechnen.

Bei den Untersuchungen über die Radikalbildung in bestrahlten biologischen Objekten nehmen die Nukleinsäuren, speziell die Desoxyribonukleinsäure (DNS) einen breiten Raum ein, da sie als Träger der genetischen Information einen Treffbereich von zentraler Bedeutung darstellen. In Abb. 1 ist der molekulare Aufbau einer doppelsträngigen DNS schematisch gezeigt. Die Einzelstränge bestehen aus einer Zucker-Phosphat-Kette mit den Purin- bzw. Pyrimidinbasen als Seitenketten und werden durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen zum Doppelstrang verknüpft.

Neben den durch quantitative ESR-Messungen erhaltenen Radikalausbeuten der Nukleinsäuren und ihrer Komponenten wurden in den letzten Jahren vor allem die den Radikalen zugrunde liegenden molekularen Veränderungen untersucht. Obwohl in einigen Fällen die Identifizierung der Radikalstruktur durch Messungen an polykristallinen Substanzen befriedigend gelang (Pershan et al., 1964), werden diese Untersuchungen hauptsächlich an Einkristallen vorgenommen, da aus der Orientierungsabhängigkeit der spektralen Parameter erheblich mehr Information über die chemische Struktur der Radikale gewonnen wird. Die hochpolymeren Nukleinsäuren sind bislang nicht kristallisierbar, doch konnten durch systematische Messungen an Einkristallen von Nukleinsäurekomponenten eine Reihe der an bestrahlten Nukleinsäuren beobachteten Spektren bestimmten Radikalstrukturen zugeordnet werden (Prüden, Snipes und Gordy, 1965; Dertinger, 1967,a,b; Cook, Elliott und Wyard, 1967; Alexander und Gordy, 1968; Lichter und Gordy, 1968; Bernhard und Snipes, 1968). Die hier vorgelegten Untersuchungen an weiteren Einkristallen von Nukleinsäure-Bestandteilen dienen zu einem Teil der Fortführung der systematischen Untersuchungen. Dies gilt besonders für die Einkristalle der Adenin-Derivate, Adenin⁺HCl und Adenosin-5'-Phosphat.

Darüber hinaus wurde versucht, Komponenten von besonderer Bedeutung bei der Inaktivierung von Nukleinsäuren zu kristallisieren, um durch die Identifizierung der Radikalstrukturen in diesen Substanzen einen Beitrag zur Klärung der Mechanismen der Strahlenwirkung auf Nukleinsäuren zu liefern.

Im Hinblick auf den sogenannten Bromuracil (BU)-Effekt elementarer biologischer Systeme wurden bestrahlte Einkristalle von Uracil-Derivaten, welche an der 5-Position des Pyrimidin-Ringes Halogen-substituiert sind, untersucht. Diese Komponenten unterscheiden sich von den in der DNS normalerweise vorkommenden Thymin-Derivaten durch den Austausch der 5-Methyl-Gruppe mit einem Halogen-Atom. Mit Hilfe biologischer Methoden ist es möglich, Halogen-substituiertes Uracil anstelle von Thymin in die DNS von Bakterien und Bakteriophagen einzubauen. Zumeist wird hierfür 5-Bromuracil (BU) benutzt, jedoch ist der Einbau von 5-Joduracil (JU) ebenfalls möglich. Die derart substituierte DNS zeigt, verglichen mit thyminhaltiger DNS, eine erhöhte Empfindlichkeit (BU-Effekt) sowohl gegenüber ionisierender Strahlung als auch gegen UV-Licht (Hotz und Zimmer, 1963). Der Mechanismus der Sensibilisierung ist bislang jedoch nicht hinreichend geklärt. Da, in Übereinstimmung mit der erhöhten biologischen Strahlenempfindlichkeit, auch die Radikalausbeute von Bromuracil ein Mehrfaches der Ausbeute des Thymin beträgt, ist zu erwarten, daß eine Identifizierung der Radikalstruktur in den Halo-Uracil-Derivaten zur Klärung des Sensibilisierungsmechanismus beitragen kann. Zudem ermöglichen diese Messungen Rückschlüsse auf die Relevanz der bislang in anderen Nukleinsäure-Komponenten identifizierten Radikale für den biologischen Strahlenschaden.

Mit Einkristallen des Zuckers der DNS, β -2-Desoxy-D-Ribose (DR), wurde eine Komponente von erheblicher Bedeutung für die Wirkung von Strahlung auf DNS untersucht. Quantitative ESR-Messungen ergaben, daß die Radikalausbeuten bestrahlter

trockener Nukleinsäure-Komponenten in der Folge Base, Nukleosid, Nukleotid und Pentose ansteigen (Müller, 1964). Trotz der hohen Ausbeute des Zuckers konnte durch die anfangs erwähnten Einkristallmessungen gezeigt werden, daß die Radikalstabilisierung in Nukleosiden und Nukleotiden bevorzugt an den ungesättigten heterozyklischen Basen stattfindet, wobei die Anlagerung atomaren Wasserstoffs an eine Basen-Doppelbindung den bei der Radikalbildung vorherrschenden Prozeß darstellt. Auf Grund dieser Befunde wurde ein Transfer von radiolytisch erzeugtem Wasserstoff vom Zucker zur Base postuliert. Untersuchungen über die chemische Struktur der in Desoxyribose gebildeten Radikale sind geeignet, in direkter Weise Aufschluß über eine Verknüpfung der Erzeugung atomaren Wasserstoffs mit der Radiolyse des Zuckers zu geben. Eine Klärung dieser Frage ist im Hinblick auf die bedeutende Rolle, die dem Wasserstoff bei der Inaktivierung von Nukleinsäuren durch Strahlung zugeschrieben wird (vgl. Braams, 1963), von großem Interesse.

Zudem sind, auf Grund des molekularen Aufbaus der DNS (s. Abb. 1), durch Strahlung bewirkte Veränderungen an der Desoxyribose direkt mit einem Strahlenschaden von offensichtlicher Wichtigkeit verbunden, dem Bruch des DNS-Stranges. Ein Bruch der Polynukleotid-Kette entsteht durch Öffnung der Zucker-Phosphat-Ester-Bindung und verhindert bei biologischen Objekten mit einsträngiger DNS die Replikation. In doppelsträngiger DNS führen nahe beieinander liegende Brüche auf gegenüber liegenden Strängen zum Bruch des Doppelstranges. Die Ausbeute der Einzelstrangbrüche bei ionisierender Strahlung pro 100 eV absorbierter Strahlenenergie wurde zu etwa 0,3 bestimmt (Hagen, 1967). Ein erheblicher Anteil der Inaktivierung von Nukleinsäuren ist also auf Strangbrüche zurückzuführen. Untersuchungen über die Wirkung von Strahlung auf Desoxyribose sind daher besonders geeignet, zur Klärung der zur

Inaktivierung von Nukleinsäuren führenden Mechanismen beizutragen.

II. Experimenteller Teil

1. Kristallisation der Nukleinsäure-Komponenten

Die Komponenten wurden als Pulver höchster Reinheit von mehreren Herstellern (Calbiochem, NBC und Schwarz Bioresearch) bezogen und ohne weitere Behandlung verwendet. Die Kristallisation aller untersuchter Substanzen erfolgte aus Lösungen, wobei sich keine Unterschiede bei der Benutzung von Proben verschiedener Herkunft ergaben. Die für die jeweilige Komponente optimalen Kristallisationsbedingungen hinsichtlich des Lösungsmittels und der Sättigung der Lösung wurden qualitativ durch Reihenansätze erprobt, wobei als Kristallisationsmethode ausschließlich die langsame Verdunstung des Lösungsmittels bei Zimmertemperatur zur Anwendung kam. Durch wiederholtes Überimpfen gut gewachsener Kristalle in frische Mutterlösungen konnte die Kristallgröße auf das für ESR-Messungen erforderliche Maß von einigen Millimetern entlang jeder Kante gebracht werden. Für die Mehrzahl der Substanzen erwies sich Wasser als geeignetes Lösungsmittel.

Einige Schwierigkeiten ergaben sich bei der Kristallisation von Desoxyribose. Diese Komponente löst sich in hohem Maße in Wasser unter Bildung eines zähflüssigen Sirups. Es mußte daher nach einem anderen Lösungsmittel gesucht werden. Zudem sollte die Kristallisation möglichst ohne Anwesenheit von Luftfeuchtigkeit erfolgen. Als geeignet erwies sich die folgende Methode: Desoxyribose-Pulver wurde in frisch destilliertem Aceton in einem getrockneten Gefäß unter Erwärmen aufgelöst. Als Impflinge wurden einige Pulverbrocken in die heiß gesättigte Lösung gegeben. Anschließend wurde das Gefäß in einen Exsikkator mit P_2O_5 als Trockenmittel überführt, vor den je eine Waschflasche

mit H_2SO_4 konz. und Kieselgel geschaltet war. So konnte die Lösung gleichmäßig, ohne Zutritt von Luftfeuchtigkeit verdunsten. Die Kristalle wuchsen als dünne, glasklare Nadeln an den Pulverimpflingen. Sie mußten nach einem Wachstum von etwa 6 - 8 mm entlang der Nadelachse aus der Lösung entfernt werden, da sich der restliche Zucker bei bestimmten, nicht quantitativ ermittelten Löslichkeitsprodukten abrupt als polykristallines Material niederschlug und die bis dahin nicht entfernten Einkristalle völlig bedeckte. Versuche, größere Kristalle zu erhalten, etwa durch Impfen mit Einkristallen oder andere Methoden, zeitigten keine befriedigenden Ergebnisse.

Die Kristall- und Molekülstruktur aller von uns kristallisierten Substanzen, ausgenommen 5-Bromuracil, sind durch Röntgenfeinstrukturanalysen bereits bestimmt worden (vgl. Tabelle 1). Für die Eindeutigkeit der Identifizierung freier Radikale durch ESR-Messungen ist die Kenntnis der Symmetrie und Struktur der untersuchten Kristalle oft entscheidend. Um zu gewährleisten, daß die von uns kristallisierten Komponenten in ihrer Struktur mit den in der Literatur beschriebenen übereinstimmen, wurden an den wichtigsten unserer Kristalle die Raumgruppen und die Dimensionen der Elementarzellen bestimmt (Schneider, 1967; Weitz, 1968). Innerhalb der Meßgenauigkeit ergab sich Übereinstimmung mit den Werten der Literatur.

In der Tabelle 1 ist eine Zusammenstellung aller untersuchter Einkristalle, ihrer Lösungsmittel und ihrer kristallographischen Eigenschaften gegeben. Von den Einkristallen von Adenin-HCl und Adenosin-5'-Phosphat wurden keine Raumgruppenbestimmungen durchgeführt. Die hierzu in Klammern angegebenen Werte sind der Literatur entnommen.

2. Bestrahlung und ESR-Messung

Die Einkristalle wurden bei Zimmertemperatur und unter Luftzutritt bestrahlt. Als Strahlenquelle diente eine ^{60}Co - γ -Quelle (Gammacell 220, Atomic Energy of Canada, Ltd.) und eine 100 kV Röntgenröhre. Letztere wurde zur Erzielung hoher Dosisraten angewendet. Die nach Bestrahlung mit beiden Methoden erhaltenen ESR-Spektren zeigten keine Unterschiede. Die zuvor farblosen Kristalle entwickelten nach der Bestrahlung eine für die jeweilige Komponente charakteristische Farbe, deren Intensität mit der Strahlendosis zunahm. Die normalerweise angewendeten Dosen lagen bei 5 - 10 Mrad, je nach der Größe der untersuchten Kristalle und der Radikalausbeute der Substanzen. Es konnten jedoch auch Dosen bis zu 80 Mrad gegeben werden, ohne daß die Kristalle brüchig wurden.

Eine Ausnahme hiervon bildeten die Einkristalle von Desoxyribose. Bei dieser Substanz lag die maximal anwendbare Dosis bei nur etwa 0,4 Mrad. Nach weiterer Bestrahlung wurden die Kristalle milchig und zerbrachen. Zudem lösten sie sich nach wenigen Stunden Lagerung an Luft zu einer sirupartigen Flüssigkeit auf, wogegen unbestrahlte Kristalle mehrere Tage an Luft gehalten werden konnten. Unter diesen Umständen erwiesen sich die ESR-Messungen der Einkristalle von Desoxyribose als schwierig, da die durch die maximal anwendbare Strahlendosis erzeugte Radikalausbeute nur wenig oberhalb der Nachweisgrenze der benutzten Spektrometer lag. Diese Schwierigkeiten können möglicherweise in Zukunft durch Bestrahlung und Messung der Substanz bei tiefen Temperaturen umgangen werden.

Die ESR-Messungen der bestrahlten Kristalle wurden im Q-Band bei 35 GHz, und, weniger häufig, im X-Band bei 9,3 GHz Mikrowellenfrequenz mit konventionellen Geräten (Hilger und Watts, AEG) bei Zimmertemperatur durchgeführt. Einige apparative Besonderheiten des für die meisten Messun-

gen benutzten Spektrometers (Hilger und Watts) sind bei Dertinger (1967c) aufgeführt. Alle Spektren wurden als erste Ableitung der Absorption registriert. Wenn nicht anders angegeben, sind die Messungen immer im Q-Band-Spektrometer durchgeführt worden.

Die Resonatoren der Spektrometer (Mode TE_{011}) wurden mit einem Goniometerkopf zur Rotation der Kristalle im Magnetfeld ausgerüstet. Die Konstruktion der Goniometer erfolgte in Anlehnung an die von Shcherbakova et al. (1965) angegebene prinzipielle Bauweise. Sie erlaubt eine Drehung der Kristalle um drei, zueinander senkrechte, kristallfeste Achsen bei einmaliger Einjustierung. Die Reproduzierbarkeit des Systems lag bei etwa $\pm 2^\circ$, wie Messungen an Kristallen mit stark anisotropen Spektren ergaben. Als Drehachsen wurden, soweit möglich, kristallographisch ausgezeichnete Achsen gewählt. Die Aufnahme der ESR-Spektren erfolgte in Winkelschritten von 10° bei Rotation des Kristalls um eine Achse. Kristalle mit großer Anisotropie der Spektren wurden in Schritten von 5° ausgemessen.

Zur Eichung der Parameter der Spektren, des g-Faktors und der Hyperfein-Aufspaltung, wurden mehrere, meßtechnisch unterschiedliche Verfahren angewendet. Das Prinzip der Eichung war jedoch identisch bei allen Methoden, so daß nur die zumeist benutzte beschrieben werden soll. Als Eichsubstanzen dienten ein kleiner Rubin-Einkristall (AEG) und eine polykristalline DPPH-Probe. Letztere ergibt eine scharfe ESR-Linie bei einem g-Faktor von $g_D = 2,00366$ (Ingram, 1958). Eine der vier zum Grundzustand $^4S_{3/2}$ der Cr^{+++} -Ionen des Rubin gehörenden ESR-Linien wurde durch geeignete Orientierung des Rubin-Kristalls neben das zu untersuchende Spektrum gelegt und mit ihm zusammen registriert. Im Anschluß an die zu dem jeweiligen Einkristall gehörende Meßserie wurde die Lage der Rubin-Linie gegen die DPPH-Linie geeicht, wobei das Magnetfeld der Nulldurchgänge beider Linien mittels Protonenresonanz (AEG) gemessen wurde.

Die unbekanntenen g -Faktoren g der Einkristallspektren können dann, bezogen auf den g -Faktor g_D der DPPH-Linie, rechnerisch bestimmt werden. Aus der Resonanzbedingung der ESR-Spektroskopie erhält man die dazu benötigte Formel:

$$g = g_D \cdot H_D/H$$

Hierbei ist H_D das gemessene Magnetfeld des Nulldurchganges der DPPH-Linie und H das Magnetfeld des Linienschwerpunktes des Einkristallspektrums, welches aus der gemessenen Lage der Rubin-Linie ermittelt wird. Der Abstand der einzelnen Linien des Einkristallspektrums, d.h. die Hyperfeinaufspaltung, ergibt sich aus dem gemessenen Abstand der Linien des Rubins und der DPPH-Probe.

III. Theoretischer Teil

1. Grundlagen

Die quantenmechanische Beschreibung eines paramagnetischen Systems im Magnetfeld erfolgt üblicherweise durch den Spin-Hamilton-Operator \mathcal{H} , der alle, das System bestimmende Wechselwirkungen enthält. Für freie organische Radikale kann der Operator, unter Vernachlässigung des geringen Beitrags des Kern-Zeeman-Terms, wie folgt geschrieben werden (Carrington, Mc Lachlan, 1967):

$$\mathcal{H} = \beta \vec{H} \cdot \underline{g} \cdot \vec{S} + \sum_i \vec{S} \cdot \underline{A} \cdot \vec{I}_i + \vec{I} \cdot \underline{P} \cdot \vec{I}$$

Hierbei steht \vec{H} für den Operator des statischen Magnetfeldes, \vec{S} für den Operator des Elektronenspins und \vec{I} für den des Kernspins. β bedeutet das Bohr-Magneton.

Der erste Term von \mathcal{H} beschreibt die Wechselwirkung des unpaarigen Radikalelektrons mit dem statischen Magnetfeld, der zweite die Hyperfein-Aufspaltung der Linien durch Wechselwirkung des Elektronenspins mit dem Kernspin des Zentralatoms des Radikals oder mit dem benachbarter Atome. Der dritte Term stellt die Kern-Quadrupol-Wechsel-

wirkung dar. Gewöhnlich werden die organischen Radikale aus Atomen ohne Quadrupol-Moment gebildet (C, N, H, O), so daß die beiden ersten Terme des Hamilton-Operators für die Beschreibung der paramagnetischen Eigenschaften dieser Radikale genügen. Kovalent gebundene Halogen-Atome besitzen jedoch große Quadrupol-Momente. Im Hinblick auf die Halo-Uracil-Einkristalle wurde daher der Kern-Quadrupol-Term in den Hamilton-Operator eingefügt.

Die Tensoren \underline{g} , \underline{A} und, in begrenztem Maße auch \underline{P} , werden aus den ESR-Spektren der Einkristalle gewonnen. Auf ihre Eigenschaften soll im Folgenden eingegangen werden, da sie für die jeweilige Radikalstruktur charakteristisch sind.

2. Der Tensor \underline{g}

Das ungepaarte Elektron freier organischer Radikale befindet sich gewöhnlich in einem π -Orbital des Moleküls. Aufgrund des Ligandenfeldes ist die Bahnbewegung des Elektrons nicht stationär, d.h. im Grundzustand des Radikals ist das Bahnmoment unterdrückt ("orbital quenching"). Der Paramagnetismus freier Radikale beruht daher nur auf dem Spin des Elektrons, so daß der zugehörige g -Faktor angenähert den Wert des freien Elektrons annehmen sollte ($g_e = 2,00232$). Die beobachteten Abweichungen von diesem Wert beruhen auf einer kleinen Kopplung angeregter Radikalzustände mit dem Grundzustand. Sie nehmen mit wachsender Spin-Bahn-Kopplungskonstante der die Radikale bildenden Atome zu. Die Beimischung angeregter Zustände erzeugt außerdem eine Orientierungsabhängigkeit, so daß der skalare g -Faktor durch einen symmetrischen Tensor \underline{g} zweiter Stufe mit neun Elementen zu ersetzen ist. Die Hauptwerte des Tensors liegen entlang den Radikalachsen. Der kleinste Hauptwert nimmt ungefähr den Wert von g_e an und ist zu erwarten, wenn das Magnetfeld parallel zur Achse des π -Orbitals liegt. Die Abweichungen der Tensor-Hauptwerte

vom Wert des freien Elektrons sind für die gewöhnlich in organischen Radikalen vorkommenden Atome auf Grund ihrer kleinen Spin-Bahn-Kopplungskonstante gering. Daher bildet der g-Tensor nur bei sehr genauen Messungen ein charakteristisches Merkmal für bestimmte Radikalstrukturen. Jedoch ist die relative Größe der Hauptwerte untereinander von Bedeutung, da durch sie die Lage der Hauptachsen des Radikals gegeben ist. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Röntgenfeinstrukturanalysen ist dadurch eine Unterscheidung verschiedener Radikalstrukturen mit gleichem Hyperfein-Verhalten möglich.

Zur Bestimmung der Elemente des \underline{g} -Tensors kann das von Schönland (1959) angegebene Verfahren benutzt werden. Bei beliebiger Orientierung des Kristalls wird der g-Faktor ausgedrückt durch

$$g^2 = \sum_i l_i G_{ij} l_j ,$$

wobei sich die Richtungskosinus l_i und l_j auf das gewählte, kristallfeste Achsensystem beziehen. Die Koeffizienten G_{ij} sind die Matrixelemente des Tensors \underline{g}^2 in diesem System. Bei der Drehung des Kristalls um eine Achse wird der Verlauf des g-Faktors in Abhängigkeit vom Drehwinkel ϕ beschrieben durch

$$g^2 = \alpha + \beta \cos 2\phi + \gamma \sin 2\phi .$$

Die Parameter α , β und γ dieser Funktion sind mit den Koeffizienten G_{ij} verknüpft. Für die Drehung des Kristalls um drei orthogonale Achsen 1, 2 und 3 erhält man:

$$G_{11} = \alpha_2 + \alpha_3 - \alpha_1$$

$$G_{12} = G_{21} = (\text{sign } \gamma_3) [(\delta_3 + \alpha_1 - \alpha_2)(\delta_3 - \alpha_1 + \alpha_2)]^{1/2}$$

mit: $\delta_3 = + (\beta_3^2 + \gamma_3^2)^{1/2}$

Durch zyklische Vertauschung der Indizes werden die übrigen Koeffizienten G_{ij} ermittelt. Der so bestimmte Tensor \underline{g}^2 ist diagonal im gleichen System wie der Tensor \underline{g} , d.h. die Hauptwerte von \underline{g} sind die Wurzeln der Hauptwerte von \underline{g}^2 .

3. Der Hyperfein-Tensor \underline{A}

Die Hyperfein-Wechselwirkung des ungepaarten Radikalelektrons ist charakteristisch für die am Radikal beteiligten Atome, so daß die Bestimmung der Tensorelemente von \underline{A} eine der Hauptaufgaben bei der Identifizierung von Radikalstrukturen darstellt. Die Wechselwirkung setzt sich aus zwei Anteilen zusammen, der magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung und der Fermi-Kontakt-Wechselwirkung (Fermi, 1930). Für jeden der bei der Hyperfein-Wechselwirkung beteiligten Kerne muß daher der zugehörige Hamilton-Operator \mathcal{H}' wie folgt geschrieben werden:

$$\mathcal{H}' = \vec{S} \cdot \underline{A} \cdot \vec{I} \simeq - \text{const} \cdot r^{-3} [\vec{I} \cdot \vec{S} - 3(\vec{I} \cdot \vec{r})(\vec{S} \cdot \vec{r})/r^2] + \text{const} \cdot \delta(\vec{r}_e - r_N) \cdot \vec{I} \cdot \vec{S}$$

Der erste Term beschreibt die anisotrope magnetische Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Für Elektronen in p-Orbitalen sind die Übergangsenergien dieses Terms von Null verschieden und proportional zu $(1-3\cos^2 \theta)$, wobei θ den Winkel zwischen dem Magnetfeld und der Hauptachse des Orbitals darstellt. Der zweite Term, die Fermi-Kontakt-Wechselwirkung, ist isotrop. Da die Größe der Wechselwirkung auf Grund der δ -Funktion von der Spindichte des Elektrons am Kernort abhängt, ist sie ein Maß für den s-Charakter des Radikalelektrons. Für π -Elektronen-Radikale sollte daher die isotrope Hyperfein-Aufspaltung verschwinden. Dies wird jedoch keineswegs experimentell beobachtet, so daß eine Konfigurationswechselwirkung des p-Elektrons mit angeregten s-Zuständen angenommen wurde (Mc Connell und Chestnut, 1958).

Das im letzten Abschnitt Gesagte bezieht sich zunächst nur auf die Hyperfein-Wechselwirkung des unpaarigen Elektrons mit dem Zentralatom des Radikals. Dieses ist für organische Radikale zumeist C^{12} mit dem Kernspin $I=0$ oder, seltener, N^{14} mit $I=1$. Nur im Falle des Letzteren ist eine Zentralatom-Hyperfeinstruktur zu erwarten. Die für die Radikalstruktur charakteristischen Hyperfein-Aufspaltungen der ESR-Spektren beruhen vor allem auf der Wechselwirkung des Radikalelektrons mit dem Kernspin benachbarter Atome, wobei zwischen Kernen in α - bzw. β -Position zum Zentralatom zu unterscheiden ist. Für die meisten der organischen Radikale sind diese Kerne Protonen ($I=1/2$).

Zur Erklärung der Hyperfein-Aufspaltung der ESR-Linien durch Protonen in α -Position wurde das Modell der Spin-Polarisation entwickelt (Mc Connell und Chestnut, 1958). Die positive Spindichte ρ_C des ungepaarten Elektrons im $2p_z$ -Orbital des Kohlenstoffs erzeugt über eine Polarisation des sp^2 -Bindungorbitals zum Wasserstoff eine negative Spindichte in dessen $1s$ -Orbital. Die daraus resultierende isotrope Hyperfein-Aufspaltung a_H des Protons ist proportional zu ρ_C :

$$a_H = Q \cdot \rho_C \quad (1)$$

Der Proportionalitätsfaktor Q hat sich experimentell als nahezu unabhängig von der Art der Substituenten am \dot{C} -H Fragment erwiesen und beträgt etwa -28 Gauss. Außer der isotropen Aufspaltung zeigen α -Protonen eine für sie typische anisotrope Wechselwirkung proportional zu $(1 - 3\cos^2\theta)$, die durch einen Tensor mit verschwindender Spur ausgedrückt wird. Minimale Aufspaltung wird erhalten, wenn das Magnetfeld parallel zur \dot{C} -H Bindungsachse liegt.

Die Hyperfein-Aufspaltung der β -Protonen kommt auf Grund der sogenannten Hyperkonjugation zustande (Heller und Mc Connell, 1960). Ihre Größe hängt stark von der durch die

Bindungswinkel gegebenen Geometrie des Radikalfragmentes ab. Diese wird durch den Dieder-Winkel ϕ zwischen der Ebene durch die Atome $\dot{C}-C(N,O)-H_{\beta}$ und der Ebene, welche von der Orbitalachse und den Atomen $\dot{C}-C(N,O)$ aufgespannt wird, angegeben. Die isotrope Aufspaltung $A_{H_{\beta}}$ der β -Protonen wird dann wie folgt ausgedrückt (Whiffen, 1967):

$$A_{H_{\beta}} = (B_0 + B_2 \cos^2 \phi) \rho_C \quad (2)$$

wobei ρ_C wieder die Spindichte des Elektrons am Zentralatom darstellt. In der obigen Formel sind B_0 und B_2 Konstanten, deren Wert von den am Radikalfragment beteiligten Atomen abhängt. Für die uns interessierenden Fragmente lauten die Konstanten:

$$\begin{array}{ll} > \dot{C}-C-H_{\beta} : & B_0 \approx 3,5 \quad \text{Gauss} \\ & B_2 \approx 51,4 \quad \text{Gauss} \\ > \dot{C}-O-H_{\beta} : & B_0 \approx -3,2 \quad \text{Gauss} \\ & B_2 \approx 31 \quad \text{Gauss} \end{array}$$

Für die Radikalgruppen des Typs C-C-H stellt Gl. 2 praktisch die gesamte Hyperfein-Aufspaltung dar. Hingegen kommt für C-OH Fragmente auf Grund der anderen Bindungspolarisation des Sauerstoffs zur isotropen Komponente noch eine anisotrope Aufspaltung nach Art der α -Protonen hinzu. Wegen seiner geringen Größe wird B_0 in Gl. 2 auch häufig weggelassen (Heller und Mc Connell, 1960).

Zur Bestimmung der Elemente des Hyperfein-Tensors \underline{A} kann die von Lund und Vänngård (1965) beschriebene Methode angewendet werden, welche als eine Erweiterung des in III.1 dargestellten Verfahrens von Schonland (1959) anzusehen ist und daher nur kurz beschrieben werden soll. Durch Störungsrechnung erster Näherung erhält man, unter Vernachlässigung des Quadrupol-Terms, aus dem Spin-Hamilton-

Operator \hat{H} die Energien ΔE der Übergänge ($\Delta M_S = \pm 1$, $\Delta M_I = 0$) zu

$$\Delta E = g \cdot \beta \cdot H + K \cdot M_I$$

mit M_S und M_I als den Quantenzahlen des Elektronen- bzw. Kernspins. K ist die Hyperfein-Aufspaltung. Bei beliebiger Kristallorientierung ist K verknüpft mit einem Tensor \underline{T} über:

$$K^2 g^2 = \sum_i l_i T_{ij} l_j$$

Der Verlauf von $K^2 g^2$ bei der Drehung des Kristalls um eine Achse wird in Abhängigkeit vom Drehwinkel ϕ gegeben durch:

$$K^2 g^2 = \alpha + \beta \cdot \cos \phi + \gamma \sin \phi$$

Mit Hilfe der Parameter α , β und γ kann, wie in III.1 angegeben, der Tensor \underline{T} aufgestellt werden. Dieser muß in dem System diagonalisiert werden, in welchem der Tensor \underline{g} diagonal ist. Es gilt dann:

$$\underline{A}^2 = \underline{g}^{-1} \cdot \underline{T} \cdot \underline{g}^{-1}$$

Die Wurzeln der Hauptwerte von \underline{A}^2 sind die gesuchten Hauptwerte von \underline{A} .

Die Rechnungen zur Bestimmung des \underline{g} -Tensors nach dem in III.1 beschriebenen Verfahren, sowie die zur Bestimmung des Tensors \underline{A} wurden mit Hilfe eines Rechenprogrammes auf einem IBM 7074 Computer durchgeführt. Die den Spektren entnommenen experimentellen Daten wurden mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate an die theoretischen Kurven angepaßt. Mit den Parametern α , β und γ der Anpassung wurden die Matrizen \underline{G} und \underline{T} aufgestellt und numerisch nach dem Jacobi-Verfahren diagonalisiert, wobei neben den Diagonalmatrizen auch die Matrizen der Eigenvektoren ("Richtungskosinus") erhalten wurden.

4. Der Quadrupol-Tensor \underline{P}

Die Behandlung von Kern-Quadrupol-Effekten in der Elektronen-Spin-Resonanz Spektroskopie ist mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden, da zum Beispiel die Berechnung der resultierenden Linienpositionen eine Störungsrechnung von höherer als zweiter Ordnung erfordert. Eine vollständige Auswertung des Quadrupol-Tensors \underline{P} aus ESR-Spektren ist bislang in keinem Falle durchgeführt worden. Es soll daher hier ausreichen, auf einige wesentliche Merkmale von Quadrupol-Wechselwirkungen einzugehen. Zur Vereinfachung sei \underline{P} von axialer Symmetrie mit verschwindender Spur angenommen. Dann kann der Quadrupol-Hamilton-Operator \mathcal{H}'' für einen wechselwirkenden Kern wie folgt geschrieben werden:

$$\mathcal{H}'' = I \cdot \underline{P} \cdot I = \frac{3eqQ}{4I(2I-1)} [I_z^2 - I(I+1)]$$

Hier bedeuten Q das Kern-Quadrupolmoment und eq den elektrischen Feldgradienten (Slichter, 1964). In der obigen Formel ist angenommen, daß die Richtung des Magnetfeldes mit der Symmetrieachse des Tensors \underline{P} übereinstimmt. In diesem Falle äußern sich die Quadrupol-Effekte nur in einer Verschiebung des gesamten ESR-Spektrums, d.h. sie wirken sich auf den g -Faktor, nicht aber auf die Hyperfein-Aufspaltung aus. Diese Verschiebung ist jedoch ohne großen Einfluß bei einem Magnetfeld von 12 kGauss, wie es in dieser Arbeit zumeist benutzt wurde.

Neben der Verschiebung wirken sich Quadrupol-Effekte in allen anderen Richtungen außer der obigen Hauptrichtung störend auf die Hyperfein-Linien aus, indem sie die Auswahlregel $\Delta M_S = \pm 1$ verletzen und Satelliten-Linien erzeugen, deren Intensität mit der Abweichung des Magnetfeldes von der Symmetrieachse von \underline{P} zunimmt. Im Falle hohen Kernspins der bei der Quadrupol-Wechselwirkung beteiligten Kerne sind die zusätzlichen Linien zahlreich. Darüber hinaus werden die Intensitäten und Abstände der Hyperfein-Linien verzerrt.

Unter Umständen wird dadurch eine Auswertung des Hyperfein-Tensors A unmöglich.

IV. Ergebnisse und Diskussion

1. Purin-Derivate

A. Adenin·HCl

In Abb. 2a ist die Strukturformel des Salzes der Purin-Base Adenin, Adenin·HCl, angegeben. Diese Komponente kristallisiert aus Wasser in zwei Modifikationen, die nach Bestrahlung identische Spektren zeigen. Die äußere Kristallform der für die meisten Messungen benutzten Modifikation und die Lage der orthogonalen ESR-Bezugsachsen sind der Abb. 2b zu entnehmen. Nach Bestrahlung mit Dosen von etwa 10 Mrad entwickelten die Kristalle eine rostbraune Farbe. Die erhaltenen ESR-Spektren sind in Abb. 3 für drei verschiedene Kristallorientierungen gezeigt. Sie bestehen im wesentlichen aus einer sehr breiten Einzellinie mit einer Halbwertsbreite von ungefähr 20 Gauss (Abb. 3a). Dem Singulett ist eine zusätzliche, schärfere Linie überlagert (Abb. 3b). Die Überlappung beider Linien ist anisotrop. In einigen Kristallorientierungen wird zudem schwach eine Triplett-Struktur angedeutet, bestehend aus zwei Linien an den Seiten des breiten Singulett und einer Mittellinie, die der Flanke der Einzellinie überlagert ist (Abb. 3c). Der Linienabstand des Triplett beträgt etwa 40 Gauss, das Amplitudenverhältnis der Linien angenähert 1:2:1. Eine Bestimmung der g-Faktoren der drei verschiedenen spektralen Komponenten wird sehr erschwert durch die Breite der Linien und ihre gegenseitige Überlagerung. Innerhalb der so begrenzten Genauigkeit ist der g-Faktor g_E der breiten Einzellinie nahezu isotrop mit einem Wert von etwa $g_E = 2,003$. Die g-Faktoren der beiden anderen Liniengruppen zeigen demgegenüber ein leicht anisotropes Verhalten. Ohne eine aufwendige numerische Linienanalyse kann hierüber jedoch keine genauere Aussage gemacht

werden. Unter diesen Umständen erschwert das Fehlen einer charakteristischen Hyperfeinstruktur der Spektren, abgesehen von der nur schwach ausgebildeten Triplet-Gruppe, eine eindeutige Identifizierung der Radikalstrukturen in Adenin·HCl erheblich. Versuche, etwa durch Variation der Bestrahlungsdosis, andere Spektren zu erhalten, blieben ohne Ergebnis.

B. Adenosin-5'-Phosphat

Das Purin-Ribonukleotid Adenosin-5'-Phosphat, dessen Strukturformel in Abb. 4 angegeben ist, neigte bei Kristallisationsversuchen aus Wasser stark zur Polymerisation unter Bildung eines weißen Gels. Durch Zusetzen von etwas verdünnter Salzsäure konnten als Kristalle feine, dünne Nadeln ohne ausgeprägte Flächen und Kanten erhalten werden. Für die ESR-Messungen wurde als Achsensystem die Nadelachse und zwei dazu orthogonale Richtungen gewählt, deren Bezug auf kristallographische Achsen jedoch nicht bekannt ist. Nach Bestrahlung mit etwa 5 Mrad verfärbten sich die Kristalle intensiv rot. Die erhaltenen Spektren setzen sich aus den im Abschnitt A. beschriebenen Liniengruppen zusammen, mit dem Unterschied, daß hier das Triplet gegenüber den anderen Linien dominiert, wie in Abb. 5 gezeigt wird. Das Vorhandensein der breiten Einzellinie drückt sich in einer Verzerrung des Amplitudenverhältnisses der Triplet-Linien aus und das schärfere Singulett ist wiederum der Mittellinie überlagert. Eine genaue Analyse der Eigenschaften der Triplet-Gruppe, wie sie an Hand der Spektren von Adenosin-5'-Phosphat möglich wäre, wurde nicht durchgeführt, da diese Linien bereits den Gegenstand ausführlicher Untersuchungen an bestrahlten Einkristallen anderer Purin-Derivate bildeten (vgl. Abschnitt C.). Für die Auswertung der Parameter der beiden anderen Liniengruppen gilt das im Abschnitt A. Gesagte.

C. Diskussion

Auf Grund der qualitativen Übereinstimmung der in Adenin-HCl und Adenosin-5'-Phosphat nach Bestrahlung gebildeten Spektren ist zu schließen, daß die Radikalstabilisierung auch in der letzteren Komponente an der Purin-Base stattfindet. Dies wird auch an Einkristallen von Purin-Nukleosiden beobachtet (Dertinger, 1967a; Alexander und Gordy, 1968; Lichter und Gordy, 1968). Die in den zuletzt erwähnten Substanzen vorherrschend gebildete Linien-Gruppe ist ein Triplet mit einer isotropen Aufspaltung von etwa 40 Gauss bei Adenin- und 35 Gauss bei Guanin-Nukleosiden. An Hand der Daten für das Triplet in Adenin-HCl und Adenosin-5'-Phosphat kann eine Übereinstimmung mit dem Triplet der Adenin-Nukleoside gefolgert werden. Demnach ist das zugehörige Radikal als durch Anlagerung atomaren Wasserstoffs an eine N=C Doppelbindung der Base entstanden anzusehen, wobei das ungepaarte Elektron am Stickstoff lokalisiert ist. Die Hyperfein-Struktur kommt durch zwei äquivalente Methylen-Protonen am Kohlenstoff in β -Position zum Stickstoff zustande, woraus ein Intensitätsverhältnis der Linien von 1:2:1 resultiert.

Im Gegensatz zu Guanin ist bei Adenin eine Wasserstoffanlagerung an zwei verschiedene Positionen der Base a priori gleich wahrscheinlich. Die beiden resultierenden Radikale sind in Abb. 6 gezeigt. Auf Grund theoretischer Berechnungen der freien Valenz der Bindungen (Pullman und Mantione, 1965) sollte die Anlagerung leicht bevorzugt an C_8 stattfinden (Abb. 6a). Lichter und Gordy (1968) konnten jedoch durch Messungen an Einkristallen von Desoxyadenosin zeigen, daß in dieser Komponente der Wasserstoff an C_2 anlagert (Abb. 6b). Eine Zuordnung der Triplet-Gruppe von Adenin-HCl und Adenosin-5'-Phosphat zu einer der beiden Radikalmöglichkeiten kann wegen der geringen Ausbeute dieser Gruppe in Adenin-HCl und der schlecht ausgebildeten Kristalle des

Nukleotids nicht vorgenommen werden, da hierzu unter anderem die genaue Lage des Moleküls in Bezug auf die ESR-Achsen bekannt sein muß. Da in den Kristallen von Adenin·HCl das Triplett gegenüber den anderen Liniengruppen nur sehr schwach ausgebildet ist, während es in den Nukleosiden und auch in Adenosin-5'-Phosphat dominiert, liegt der Schluß nahe, daß der Wasserstoff für das der Triplett-Gruppe zugrunde liegende Anlagerungsradikal hauptsächlich vom Zucker herrührt. Diese Hypothese ist im Einklang mit analogen Befunden für das Wasserstoffanlagerungsradikal der Thymin-Derivate (Pruden, Snipes und Gordy, 1965; Müller, 1968). Hierauf wird bei den Ergebnissen der Messungen an Einkristallen von Desoxyribose (vgl. IV.3) ausführlich eingegangen.

Über die durch die beiden anderen Linien-Gruppen der Adenin-Komponenten, das breite Singulett und die schärfere Linie, dargestellten Radikale kann wegen der geringen spektralen Information keine eindeutige Aussage gemacht werden. Die schon früher unter anderem diskutierte Möglichkeit von Ionenradikalen (Dertinger, 1967c) gewinnt jedoch durch eine neuere Arbeit an Bedeutung und soll daher hier kurz erörtert werden. Nach Berechnungen von Baudet, Berthier und Pullman (1962) sollten sowohl das positive als auch das negative Radikal-Ion von Adenin erkennbare Hyperfein-Struktur zeigen. Andererseits ist zu bedenken, daß diese durch die erhebliche Linienbreite eines der Singuletts unaufgelöst bleiben kann. Da von Lacroix, Depireux und van de Vorst (1967) auf Grund einer Korrelation zwischen einer g-Faktor-Verschiebung der ESR-Spektren und der berechneten Elektronenaffinität die Bildung negativer Ionenradikale speziell für bestrahlte Purin-Basen gefordert wird und da ferner eine breite Einzellinie das typische Spektrum dieser Substanzen darstellt (Müller, 1964), besteht die Möglichkeit, dem Singulett ein negatives Radikal-Ion zuzuordnen.

2. 5-Halo-Uracil-Derivate

A. Allgemeine Ergebnisse

Die Strukturformeln der drei untersuchten 5-Halo-Uracil-Derivate, der Base 5-Bromuracil (BU) und der Nukleoside 5-Bromdesoxyuridin (BUDR) und 5-Joddesoxyuridin (JUDR) sind in der Abb. 7 angegeben. Wegen der Länge der Namen der Substanzen sollen im Folgenden immer die in Klammern gegebenen Abkürzungen für die Komponenten benutzt werden. Alle Derivate wurden aus Wasser kristallisiert. Da eine Radikalidentifizierung häufig durch den Austausch der am Radikal beteiligten Wasserstoffatome durch Deuterium auf Grund des unterschiedlichen Kernspins beider Isotope erleichtert wird, wurden von BUDR und JUDR Einkristalle auch aus schwerem Wasser gezogen. Es ist bekannt, daß auf diese Weise nur $>N-H$ und $-O-H$ Wasserstoffatome durch Deuterium ersetzt werden können. Die Austauschrate beträgt etwa 70 - 80 % (vgl. Shrivastava und Anderson, 1968). Die kristalline Struktur der Substanzen wird bei der Züchtung aus schwerem Wasser nicht geändert.

Die äußere Form der von den drei Komponenten erhaltenen Kristalle, ihre Achsen und die Lage des für die ESR-Messungen benutzten Achsensystems werden in Abb. 8 gezeigt. Im Falle der monoklinen Kristalle von BU und BUDR wurden die kristallographischen Achsen b und c, sowie eine dazu orthogonale Richtung a' als ESR-Bezugsachsen gewählt. Beim triklinen Kristall der Komponente JUDR war die Verwendung eines von den Kristallachsen unabhängigen Systems a', b' und c' nötig, da eine Zuordnung der durch die Elementarzelle gegebenen Kristallachsen zu den Kristallkanten bei trikliner Symmetrie zeitraubend ist und erst nach Beendigung der ESR-Messungen vorlag (Weitz, 1968).

Die nach Bestrahlung aller drei Substanzen gemessenen ESR-Spektren lassen sich in zwei Linien-Gruppen A und B mit deutlich verschiedenen spektralen Eigenschaften zerlegen.

Dies wird am Beispiel der Komponente JUDR in Abb. 9 für eine Kristallorientierung, bei welcher die beiden Gruppen voneinander getrennt sind, gezeigt. Die Linien der Gruppe A erscheinen nahe bei dem g-Faktor des freien Elektrons und zeigen die für gewöhnliche organische Radikale übliche leichte Anisotropie des g-Faktors. Demgegenüber ist der Linienschwerpunkt der Gruppe B zu niedrigen Magnetfeldern verschoben und weist überdies eine erhebliche Orientierungsabhängigkeit auf. Zusammen mit der großen Breite der gesamten Gruppe B von zum Teil einigen hundert Gauss, resultiert daraus eine Überlappung der Linien von A und B in den meisten Kristallorientierungen, wodurch eine Identifizierung der Radikalstruktur erschwert wird.

Es wurde daher versucht, eine der beiden Liniengruppen selektiv zu erzeugen oder zu unterdrücken. Dies gelingt bei freien Radikalen häufig durch Ausheizen der Probe nach Bestrahlung, jedoch sind im vorliegenden Falle beide Gruppen bis zu 150 °C thermisch gleich stabil. Auch zeigen sie die gleiche Mikrowellensättigung, so daß durch Variation der Mikrowellenleistung keine Trennung der Gruppen zu erreichen war. Es gelang jedoch, die relative Ausbeute der Gruppen A und B in den Spektren von BU und BUDR durch eine Änderung der Bestrahlungsdosis zu beeinflussen. Mit zunehmender Dosis wächst bei der Komponente BU der Anteil der Gruppe B im Vergleich zu dem der Gruppe A auf ein Verhältnis von etwa drei zu eins bei 80 Mrad an. Eine derartige Tendenz wurde auch von Köhnlein (1963) an pulverförmigen Proben von BU beobachtet. Umgekehrt nimmt die Ausbeute der Gruppe B bei dem Nukleosid BUDR mit zunehmender Dosis ab, so daß bei 80 Mrad die Linien von A in den Spektren vorherrschen. Ferner ergab sich, daß bei der Komponente JUDR eine zu BUDR analoge Veränderung der relativen Ausbeute beider Liniengruppen nach Lagerung der mit Dosen von 5 - 10 Mrad bestrahlten Kristalle über einige Monate hinweg auftritt.

Auf Grund der engen Korrelation zwischen den Spektren und, wie gezeigt wird, auch zwischen den Radikalstrukturen aller drei Substanzen werden in den folgenden Abschnitten ihre Ergebnisse gemeinsam beschrieben, wobei jedoch zwischen den Gruppen A und B unterschieden werden soll, da sie offensichtlich verschiedenartigen Radikalen angehören. Ferner wird die Linien-Gruppe B der Komponente BU gesondert behandelt, da ihr ein weiteres Radikal zugeordnet werden muß.

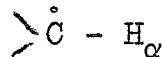
B. Die Linien-Gruppe A in 5-Bromuracil, 5-Bromdesoxyuridin und 5-Joddesoxyuridin

Nach Bestrahlung der Kristalle mit Dosen von etwa 10 Mrad zeigt die Gruppe A, soweit es sich trotz der bei diesen Dosen starken Überlagerung durch die Linien von B ermitteln läßt, das Vorhandensein zweier Radikale, von denen eines durch ein Dublett-Spektrum dargestellt wird. Wie im letzten Abschnitt beschrieben, kann erreicht werden, daß bei BUDR und JUDR die Gruppe A in den Spektren dominiert. Gleichzeitig damit ist aber auch das Dublett bei den Linien von A vorherrschend, so daß über das andere Radikal dieser Gruppe keine Aussage möglich ist.

In Abb. 10 wird das Dublett-Spektrum für alle drei Substanzen gezeigt, wobei jeweils die Kristallorientierung mit größter Aufspaltung der Linien gewählt wurde. Eine derartige Hyperfein-Struktur der Linien kann nur aus der Wechselwirkung des Radikalelektrons mit einem Proton resultieren, wobei auf Grund des Fehlens einer Zentralatom-Hyperfein-Aufspaltung eine Lokalisierung des Elektrons an einem Kohlenstoffatom wahrscheinlich gemacht wird. Die unterschiedliche Größe der maximalen Aufspaltung deutet auf verschiedenartig gebundene Wasserstoffatome hin.

Der Verlauf des g-Faktors und der Hyperfein-Aufspaltung der Dublett-Linien in der Komponente JUDR in Abhängigkeit von der Orientierung des Kristalls im Magnetfeld wird in

Abb. 11 für die drei gemessenen orthogonalen Ebenen angezeigt. Die hieraus ermittelten Hauptwerte der Tensoren \underline{g} und \underline{A} mit den entsprechenden Richtungskosinus der Radikalachsen bezüglich des ESR-Achsensystems sind in der Tabelle 2 angegeben. Die nur geringen Abweichungen der Hauptwerte von \underline{g} von dem Wert des freien Elektrons weisen darauf hin, daß das ungepaarte Elektron in einem $2p_z$ -Orbital eines Kohlenstoffatoms lokalisiert ist. Ferner muß die Hyperfein-Aufspaltung auf Grund ihrer Größe und Anisotropie eindeutig der Wechselwirkung des Elektrons mit einem Proton in α -Position zum Kohlenstoff zugeschrieben werden. Daher liegt dem Dublett-Spektrum in JUDR ein Radikalfragment der Art



zugrunde. Aus der isotropen Hyperfein-Aufspaltung $a_{\text{H}} = 17,5$ Gauss des Protons wird unter Benutzung der Gl. 1 (Abschnitt III.3) eine Spin-Dichte ρ_{C} am Kohlenstoff von

$$\rho_{\text{C}} = a_{\text{H}}/Q = 0.63$$

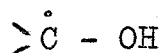
erhalten.

Nach Bestrahlung deuterierter Kristalle von JUDR wird in der Linien-Gruppe A ein Dublett mit gleichen Eigenschaften erhalten. Zum Beweis soll das in Abb. 12 gezeigte Spektrum deuterierter Kristalle in einer Orientierung mit maximaler Dublett-Aufspaltung genügen. Die Größe dieser Aufspaltung stimmt mit der an den normalen Kristallen in gleicher Orientierung gefundenen völlig überein (vgl. Abb. 10a).

Für das Dublett-Spektrum der Komponente BUDR wird die Abhängigkeit der spektralen Parameter von der Kristallorientierung in den gemessenen Ebenen in Abb. 13 angegeben.

Wie schon aus Abb. 10 hervorging, ist hier die Aufspaltung der Linien erheblich kleiner als in JUDR. Das wechselwirkende Wasserstoffatom kann daher kein α -Proton sein. Vielmehr ist die Hyperfein-Wechselwirkung charakteristisch für

ein am Kohlenstoff gebundenes Hydroxyl-Proton in einer Radikal-Gruppe der Form



Diese Hypothese wird auch gestützt durch die im Vergleich zu JUDR höheren Hauptwerte des g-Tensors, dessen Zahlenwerte, zusammen mit den Hauptwerten des Tensors A und den zugehörigen Richtungskosinus in der Tabelle 3 aufgeführt sind.

Mit Hilfe der Gl. 2 (Abschnitt III.3) kann an Hand der isotropen Hyperfein-Aufspaltung A_{OH} des Hydroxyl-Protons die Spindichte ρ_c am Kohlenstoff ermittelt werden. Zwar ist die genaue Position des Protons nicht bekannt, jedoch wird üblicherweise der Diëder-Winkel von C-OH Fragmenten zu $\varphi = 60^\circ$ angenommen (vgl. Benson und Snipes, 1968). Mit den auf S. 14 angegebenen Werten der Konstanten B_0 und B_2 ergibt sich:

$$\rho_c \cong 0.45$$

Das nach Bestrahlung deuterierter Einkristalle von BUDR in der Linien-Gruppe A gefundene Dublett-Spektrum zeigt, wie schon bei JUDR, die gleichen Eigenschaften wie das normaler BUDR-Kristalle. Dies geht aus einem Vergleich der Aufspaltung der Linien in Abb. 10 mit der des Dubletts in Abb. 14 hervor, welches von einem deuterierten Kristall von BUDR in analoger Orientierung erhalten wird.

Bei den Einkristallen der Base BU dominiert die Linien-Gruppe A, welche das Dublett enthält, nur nach Bestrahlung mit Dosen von höchstens 10 Mrad. Unter diesen Bedingungen zeigen die Spektren jedoch ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis, was auf den kleineren Abmessungen der BU-Kristalle und der gegenüber den Nukleosiden geringeren Radikalausbeute der Base beruht. Daher konnten die Messungen des Dubletts in BU nur in einer Ebene (ca') erfolgen, weshalb eine vollständige Angabe der Tensoren nicht möglich ist. Eine Drehung um die anderen Achsen stört die

Zylinder-Symmetrie der Feldlinien des TE_{011} -Resonators beträchtlich und verschlechtert das Signal-Rausch-Verhältnis entsprechend. Andererseits lassen sich aus Messungen einer Ebene zwei der drei Hauptwerte der Tensoren bereits annähernd ermitteln, wodurch an Hand eines Vergleichs mit den zuvor besprochenen Ergebnissen in BUDR und JUDR eine Aussage über die Eigenschaften des Dubletts in BU ermöglicht wird. Die erhaltenen Daten zeigen eindeutig, daß die charakteristischen Merkmale des Dubletts in BU und BUDR völlig übereinstimmen. So beträgt beispielsweise die größte Aufspaltung der beiden Linien 7 Gauss in BU, verglichen mit 8 Gauss bei BUDR (Abb. 10). Es wird daher angenommen, daß auch die Radikale der Gruppe A in BU und BUDR identisch sind.

C. Diskussion

Die Klärung der Frage nach der Struktur und Lokalisierung der dem Dublett-Spektrum der Linien-Gruppe A in JUDR einerseits und in BU und BUDR auf der anderen Seite zugrunde liegenden Radikale wird durch die Kenntnis der Lage der Moleküle in den jeweiligen Kristallen bedeutend erleichtert. Daher sollen im Folgenden zur Stützung der angenommenen Radikalstrukturen jeweils die aus den Röntgenfeinstrukturanalysen ermittelten Daten benutzt werden.

Auf Grund der Übereinstimmung der Dublett-Spektren in der Base BU und im Nukleosid BUDR wurde im letzten Abschnitt die Bildung des gleichen Radikals in beiden Komponenten postuliert. Demnach muß das Radikal in BUDR ebenfalls an dem Basen-Ring lokalisiert sein. Nach der Theorie liegt der kleinste Hauptwert des g-Tensors parallel zur π -Orbitalachse. Für ein Radikal an der planaren Base fällt diese Richtung mit der normalen des Basenringes zusammen. Da nach den Daten von Iball et al. (1966) der Pyrimidin-Ring des Nukleosids BUDR die Ebene ac des Kristalls unter einem Winkel von annähernd 20° schneidet, muß bei einem Radikal an der Base dieser Substanz der kleinste g-Faktor immer

dann gefunden werden, wenn das Magnetfeld in den Ebenen ab und bc diesen Winkel mit der b-Achse bildet. Der Verlauf des g-Faktors (Abb. 13) in den genannten Ebenen und, entsprechend, auch die Richtungskosinus des kleinsten Hauptwertes von \underline{g} (Tabelle 3), zeigen deutlich die Übereinstimmung mit dieser Annahme.

Für die Bildung einer C-OH Radikalgruppe an der Base kommen bei BU und BU DR zwei Positionen des Pyrimidin-Ringes in Betracht, die in Abb. 15 angeführt sind. Das Radikal kann durch eine Anlagerung von Wasserstoff an den an C_4 (Schema I) oder an C_2 (Schema II) gebundenen Sauerstoff entstehen. Eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten kann auf Grund der ESR-Daten nicht getroffen werden, da unter anderem die Position des angelagerten Wasserstoffs im Kristall nicht bekannt ist. Jedoch erscheint die Bildung des Radikals I theoretisch als wahrscheinlicher, da es durch Verschiebung der $C_5=C_6$ Doppelbindung die Bildung einfacher Resonanzstrukturen mit entsprechender Delokalisierung des Spins erlaubt.

Das dem Dublett-Spektrum in der Komponente JUDR zugeordnete Radikal ist ebenfalls an der Pyrimidin-Base stabilisiert, wie mit Hilfe der kristallographischen Strukturparameter (Camerman und Trotter, 1965) gezeigt werden kann. Hierzu sei wieder der die Radikal-Hauptachse charakterisierende kleinste Hauptwert von \underline{g} betrachtet. Aus Abb. 11 geht hervor, daß der g-Faktor seinen minimalen Wert in der a'c'-Ebene, unter einem Winkel von etwa 40° zur a'-Achse annimmt. Da der Pyrimidin-Ring im JUDR-Kristall die bc-Ebene unter annähernd 45° schneidet, stimmt die Lage des kleinsten g-Faktors mit der Normalenrichtung der Base innerhalb der Meßgenauigkeit überein.

Die Position des wechselwirkenden α -Wasserstoffs des C-H Radikalfragments an der Base des Nukleosids JUDR läßt sich an Hand der Hyperfein-Aufspaltung des Dubletts ermitteln.

Die geringste Aufspaltung muß gemessen werden, wenn das Magnetfeld parallel zur C-H Bindungsachse verläuft. Der Abb. 11 und den entsprechenden Richtungskosinus der Tabelle 2 wird entnommen, daß der kleinste Hauptwert der Aufspaltung mit der Richtung der c-Achse zusammenfällt. Demnach muß das α -Proton an den Kohlenstoff C_6 der Base gebunden sein; denn, obwohl die Lage der Protonen aus der Röntgenfeinstrukturanalyse nicht bestimmt werden kann, erfordert die Symmetrie des Pyrimidin-Ringes, daß die beiden Protonen der Base entlang der Diagonalen durch N_3 und C_6 liegen. Diese Richtung verläuft aber parallel zur c-Achse des Kristalls.

Da schon in der unveränderten Base an C_6 ein Proton gebunden ist, muß das gebildete Radikal in JUDR zunächst an anderer Position entstanden und anschließend über eine Resonanzstruktur an C_6 stabilisiert worden sein. Ein ähnliches Verhalten wurde von Snipes und Benson (1968) an dem in bestrahlten Einkristallen von 5-Nitro-6-Methyl-Uracil gebildeten Radikal beobachtet. Wenn man ein zu dem von diesen Autoren vorgeschlagenen analoges Modell auf den vorliegenden Fall anwendet, so können die Radikalstrukturen aller drei Komponenten BU, BUDR und JUDR als verschiedene Resonanzstrukturen desselben Radikals I erklärt werden. Wie in Abb. 16 dargestellt ist, entsteht ein nur vom Substituenten an C_5 , Br oder J, abhängiges Gleichgewicht der Radikale I und III. Bei BU und BUDR verbleibt der größte Teil der Spindichte an C_4 , während bei JUDR eine Resonanzstabilisierung an C_6 unter Bildung des Radikals III stattfindet. Auf die Bedeutung dieses Modells für die Radikalbildung in anderen Pyrimidin-Komponenten der Nukleinsäuren wird in der zusammengassenden Diskussion (IV.4) eingegangen.

D. Die Linien-Gruppe B in 5-Bromdesoxyuridin und 5-Joddesoxyuridin

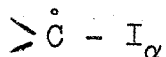
Einige Merkmale der Linien der Gruppe B wurden bereits kurz im Abschnitt A beschrieben. Ihr g-Faktor weicht stark von dem des freien Elektrons ab und weist überdies eine erhebliche Anisotropie auf, d.h. es liegt eine bedeutende Spin-Bahn-Kopplung vor. Diese kann nur von der Wechselwirkung des Radikalelektrons mit einem Halogen-Atom herrühren. Zudem weist auch das Verhalten der Hyperfein-Linien dieser Gruppe auf eine Beteiligung des Halogens am Radikal hin. Sowohl die Intensitäten, wie auch Aufspaltung und Zahl der Linien hängen in großem Maße von der Kristallorientierung ab, so daß ein Einfluß der Kern-Quadrupol-Wechselwirkung der Halogen-Atome auf die Hyperfein-Linien gefolgert werden kann. Eine befriedigende Auswertung der Spektren der Gruppe B erweist sich daher als schwierig. Dies soll in Abb. 17 am Beispiel der Komponente JUDR durch den Verlauf aller spektralen Linien in der a'b'-Ebene des Kristalls demonstriert werden. Unabhängig von ihrer Intensität wird hier jede beobachtete Linie als Punkt wiedergegeben. Die Gruppe B ist, soweit sie von einer Orientierung zur nächsten zu verfolgen war, durch ausgezogene, oder, in unsicheren Fällen, durch gestrichelte Linien verbunden. Diese Figur zeigt deutlich die starke Überlappung der Gruppe B mit der bei etwa 12 300 Gauss erscheinenden Gruppe A. Ferner kann der Abbildung das stark anisotrope Verhalten der spektralen Parameter der Gruppe B entnommen werden.

Über das Gesagte hinaus ergeben sich bei der Linienanalyse der Spektren der Gruppe B in der Komponente BUDR zusätzliche Schwierigkeiten. Natürliches Brom enthält zwei Isotope, Br^{79} und Br^{81} , zu annähernd gleichen Anteilen. Zwar besitzen beide den gleichen Kernspin $I = 3/2$, jedoch ist auf Grund der Verschiedenheit der magnetischen Kernmomente eine unterschiedliche Wechselwirkungsenergie der Isotope zu erwarten. Dieser Umstand führt zu Linienverbreiterungen oder zusätzlichen Linien. Ferner zeigen die Spektren der

Gruppe B dieser Substanz sogenannte Positionsaufspaltung, welche von magnetisch inäquivalenten Molekülpositionen im Kristall herrührt. Hieraus resultiert wiederum eine Vermehrung der Linienzahl für die meisten Kristallorientierungen.

Hingegen besitzt der trikline Kristall der Komponente JUDR nur ein Molekül in der Elementarzelle und kann somit keine Positionsaufspaltung der Spektren zeigen. Zudem sind das magnetische Moment und die Spin-Bahn-Kopplungskonstante des einzigen natürlich vorkommenden Isotops J^{127} ($I = 5/2$) erheblich größer, als die der Bromisotope. Daraus ergibt sich für die meisten Orientierungen des JUDR-Kristalls eine befriedigende Trennung der Linien der Gruppe B von denen der Gruppe A (vgl. Abb. 17). Diese Komponente erscheint daher für eine Auswertung der Gruppe B besser geeignet und soll zuerst abgehandelt werden.

Dazu sei noch einmal das in Abb. 9 gezeigte Spektrum von JUDR betrachtet, welches in der a'b'-Ebene des Kristalls bei etwa 120° erhalten wird. Die Gruppe B besteht hier aus acht Linien mit einer Aufspaltung von ungefähr 40 Gauss und einem Amplitudenverhältnis der Linien von annähernd 1:3:4:4:4:4:3:1. In allen anderen Orientierungen stellt sich die Gruppe B erheblich unübersichtlicher dar. Es darf daher angenommen werden, daß diese spezielle Richtung entlang einer Hauptachse der Tensoren A und P verläuft (vgl. Abschnitt III.3 und III.4). Nach den kristallographischen Daten (Cameran und Trotter, 1965) wird die obige Konfiguration erhalten, wenn das Magnetfeld parallel zur C_5 -J-Bindung liegt. Dadurch wird der Schluß nahegelegt, daß dem Oktett-Spektrum ein Radikalfragment der Art



zugrunde liegt.

Das Fehlen von Satelliten-Linien im Spektrum der Gruppe B der Abb. 9 weist auf eine axiale Symmetrie des Tensors \underline{P} hin, wobei die C-J-Bindung als Symmetrieachse angesehen werden muß. Demnach fallen die Hauptrichtungen von \underline{A} und \underline{P} zusammen und das Oktett kann näherungsweise mit den Auswahlregeln für Dipol-Übergänge interpretiert werden. Nach dem im letzten Absatz Gesagten ist das ungepaarte Elektron des C-J-Fragmentes am Kohlenstoff C_5 lokalisiert. Aus der Wechselwirkung mit dem Kernspin des Jod-Atoms resultiert eine äquidistante Sextett-Liniengruppe. Das Oktett-Spektrum mit den oben angegebenen Intensitäten muß durch eine weitere Aufspaltung jeder der sechs Linien in ein 1:2:1-Triplett entstehen. Hierfür kommen nur zwei äquivalente Protonen in β -Position zum Kohlenstoff in Betracht. Den Linien der Gruppe B in der Komponente JUDR muß also das in Abb. 18 gezeigte Radikal IV zugeordnet werden, welches durch Anlagerung atomaren Wasserstoffs an die Position C_6 unter Aufbruch der $C_5 = C_6$ -Doppelbindung zustande kommt. Der Mechanismus der Bildung dieses Radikals verläuft völlig analog zu dem in Thymin beobachteten (Pruden, Snipes und Gordy, 1965).

Bei der Interpretation wurde vorausgesetzt, daß die Jod-Hyperfeinaufspaltung in dieser speziellen Orientierung mit der Aufspaltung der β -Methylen-Protonen übereinstimmt. Letztere beträgt nach Abb. 9 annähernd 40 Gauss. Dieser Wert stimmt mit dem der analogen Aufspaltung in Thymin überein, so daß die Spindichte ρ_C am Kohlenstoff C_5 in JUDR ebenfalls zu

$$\rho_C \approx 0,7$$

angenommen wird. Eine Berechnung an Hand der α -Jod-Aufspaltung ist nicht möglich, da die Gl. 1 von S. 10 nur für C-H $_{\alpha}$ -Gruppen gültig ist. Eine Übertragung auf C-J $_{\alpha}$ -Fragmente erscheint fragwürdig. Pooley und Whiffen (1962) haben gefunden, daß beispielsweise die isotrope Aufspaltung einer

C-Cl-Gruppe, im Gegensatz zur α -Protonen-Kopplung, ein positives Vorzeichen besitzt.

Darüber hinaus läßt sich die isotrope Jod-Kopplung, welche zur Berechnung der Spindichte nötig wäre, nur begrenzt aus den Spektren der Gruppe B bestimmen. Da die Aufspaltung der β -Methylen-Protonen nach der Theorie nahezu isotrop sein muß, kann jedoch versucht werden, aus der gesamten Aufspaltung der Gruppe B unter der Annahme der Auswahlregel $\Delta M_I = 0$ die Hauptwerte der Jod-Hyperfein-Aufspaltung näherungsweise abzuschätzen. Der kleinste Hauptwert, A_1^J , parallel zur C-J-Bindung, ist bereits bekannt und beträgt

$$A_1^J \simeq 40 \text{ Gauss.}$$

Dieser Wert ist als gesichert anzusehen, da für ihn die obige Annahme zutrifft. Der größte Hauptwert sollte entlang der π -Orbitalachse, also normal zum Basenring gefunden werden. Diese Richtung stimmt mit der der maximalen Gesamtaufspaltung von B überein. Der so erhaltene Wert von A_2^J beträgt etwa

$$A_2^J \simeq 80 \text{ Gauss.}$$

Der dritte Hauptwert A_3^J wird aus einer zu den beiden anderen Richtungen orthogonalen Orientierung zu annähernd

$$A_3^J \simeq 60 \text{ Gauss}$$

bestimmt. Dieser Wert stellt auch näherungsweise die isotrope Jod-Kopplung a_J dar. In einer zur Gl. 1 von S. 13 analogen Relation für ein C-J-Fragment,

$$a_J = Q_J \cdot \rho_C ,$$

müßte dann die Konstante Q_J einen Wert von ungefähr

$$|Q_J| \simeq 85 \text{ Gauss}$$

annehmen, wenn ρ_C mit 0,7 angesetzt wird.

Eine Bestimmung der Elemente des Quadrupol-Tensors \underline{P} aus den Spektren der Gruppe B in JUDR ist nur sehr schwer möglich. Es soll jedoch eine Abschätzung des Kern-Quadrupol-Moments des Jod-Atoms gegeben werden. Nach Pooley und Whiffen (1962) lassen sich hierzu die schwachen Satellitenlinien benutzen, welche in Orientierungen nahe der Symmetrieachse von \underline{P} durch Quadrupol-Wechselwirkung auftreten. Nach der Abb. 17 erscheinen diese Linien etwa 15° von der C-J-Bindung (120°) entfernt in der a'b'-Ebene des Kristalls. Die Aufspaltung der Linien nimmt den Wert der Jod-Kopplung in dieser Richtung an, die annähernd 45 Gauss beträgt. Daraus resultiert für die Quadrupol-Konstante Q' (vgl. S. 12):

$$Q' = 3 \text{ eq}Q/4I(2I-1) \approx 45 \text{ Gauss}$$

Mit dem Kernspin $I=5/2$ von Jod ergibt sich dann eine Quadrupol-Kopplung von:

$$\text{eq}Q \approx 1800 \text{ MHz}$$

Dieser Wert stimmt recht gut mit dem für kovalent gebundenes Jod von 2000 MHz (Slichter, 1964) überein.

Zum Abschluß der Behandlung der Gruppe B in der Komponente JUDR sei der Verlauf ihres g-Faktors in den drei gemessenen Ebenen in Abb. 19 gezeigt. Die experimentellen Werte sind in Einklang mit den berechneten Kurven, wie es auch bei einem Magnetfeld von ungefähr 12000 Gauss zu erwarten ist, da die feldunabhängigen Terme des Hamilton-Operators bei diesen Feldstärken keinen Einfluß auf den g-Faktor besitzen. Die Hauptwerte des Tensors \underline{g} und die Richtungskosinus bezüglich der ESR-Achsen sind in der Tabelle 4 aufgeführt. Sie stimmen mit dem Basen-Radikal IV gut überein, wie an Hand der kristallographischen Daten geprüft wurde.

Die Linien der Gruppe B in Einkristallen der Komponente BUDR zeigen generell die gleichen Eigenschaften wie die in JUDR und werden daher auch dem Radikal IV (Abb. 18) zugeordnet.

Die zwei BUDR-Moleküle der monoklinen Kristalle befinden sich jedoch in Positionen, die verhindern, daß bei Benutzung der angegebenen ESR-Achsen eine Orientierung erhalten wird, bei der die Hauptachse in Richtung der C-Br-Bindung in allen Radikalen parallel zum Magnetfeld ausgerichtet ist. Das in Abb. 20 gezeigte Spektrum erfüllt diese Bedingung am besten. Die theoretischen Linienpositionen des Radikals IV sind unter dem Spektrum angegeben. Die schwächeren Linien auf der Seite hohen Magnetfeldes kommen auf Grund der erwähnten Positionsaufspaltung zustande. Die Hyperfein-Struktur des Radikals wird durch ein Sextett dargestellt, bestehend aus vier nahezu äquidistanten Brom-Linien, von denen jede durch die β -Methylen-Protonen in ein Triplet aufgespalten wird.

Der kleinste Hauptwert A_1^{Br} der Brom-Kopplung ergibt sich aus diesem Spektrum annähernd zu

$$A_1^{\text{Br}} \approx 33 \text{ Gauss.}$$

Eine Abschätzung der übrigen Hauptwerte soll hier wegen der zu Beginn des Abschnitts D beschriebenen Umstände nicht gegeben werden. Ungewöhnlich an den Spektren der Gruppe B in BUDR ist die beobachtete Positionsaufspaltung, da die Moleküle des unbestrahlten Kristalls sich in magnetisch äquivalenten Lagen befinden (Iball, et al., 1966). Es ist daher zu vermuten, daß durch die Radikalbildung die Planarität des Basenringes aufgehoben wird. Auf Grund der hohen Kernmomente und der Spin-Bahn-Kopplungskonstanten können geringe Veränderungen dieser Art eine ausgeprägte Positionsaufspaltung bewirken. Wenn dies zutrifft, sollten aber auch die β -Methylen-Protonen an C_6 des Radikals IV in BUDR, und, entsprechend, in JUDR nicht äquivalent koppeln. Hierüber läßt sich jedoch kaum etwas aussagen, da die Spektren beider Komponenten für eine genaue Analyse dieses Effektes nicht geeignet sind.

Die Hauptwerte des g-Tensors für das Radikal IV in BUDR, welche in der Tabelle 4 aufgeführt sind, liegen ein wenig unter den entsprechenden Werten der Komponente JUDR. Dieser Unterschied entspricht dem Verhältnis der Spin-Bahn-Kopplungskonstanten von Brom und Jod.

E. Die Linien-Gruppe B in 5-Bromuracil

Im Gegensatz zur Linien-Gruppe A, bei welcher für alle drei Halo-Uracil-Derivate BU, BUDR und JUDR die Bildung eines einzigen Radikal-Typs postuliert wurde, muß für die Gruppe B in BU ein von dem in BUDR und JUDR verschiedenes Radikal angenommen werden. Die Spektren von B in dieser Komponente besitzen völlig andere Eigenschaften als die im letzten Abschnitt beschriebenen. Dies wird durch das in Abb. 21 gezeigte Spektrum von BU dargelegt. Es wird erhalten, wenn das Magnetfeld parallel zur b-Achse des Kristalls verläuft. Die Gruppe B besteht hier aus vier Linien mit gleicher Intensität, aber unterschiedlichem Abstand. Diese Hyperfeinstruktur wird der Wechselwirkung des Radikalelektrons mit einem Brom-Kern zugeschrieben. Die Linien schwächerer Intensität, welche zusätzlich bei niedrigem Magnetfeld erscheinen, gehören möglicherweise zu dem Radikal IV. Sie sollen aber hier nicht betrachtet werden, da ihre Amplitude für eindeutige Aussagen zu gering ist.

In einer anderen Orientierung des BU-Kristalls, mit dem Magnetfeld entlang der a-Achse, wird das Spektrum der Abb. 22 beobachtet. Die Gruppe B ist hier gekennzeichnet durch vier Gruppen von Linien, deren Schwerpunkt mit dem der Gruppe A zusammenfällt. Diese Quartett-Grundstruktur beruht wieder auf der Kopplung des Brom-Kernes. Die beiden äußersten Liniengruppen von B zeigen ein sehr gut aufgelöstes 1:1:1-Triplett mit einer Aufspaltung von etwa 15 Gauss, welche nur von einer Spindichte des ungepaarten Elektrons an einem Stickstoff-Atom herrühren kann. Auf Grund von Übergängen zweiter Ordnung wird dieses Triplett

in den beiden mittleren Liniengruppen von B stark überlagert. Der Kopplungs-Tensor einer Stickstoff-Zentralatomaufspaltung ist im allgemeinen axialsymmetrisch mit Werten von (vgl. Lichter und Gordy, 1968):

$$A_{NH} = 16 \text{ Gauss}$$

$$A_{NI} = 0 \text{ Gauss.}$$

Hierbei wurde eine Spindichte am Stickstoff von ungefähr 0,38 angenommen, wie sie in heterozyklischen Stickstoff-Radikalen experimentell zumeist gefunden wird. Durch Messungen der Kristalle im X-Band bei 9,3 GHz in beiden obigen Orientierungen wurde geprüft, daß die beschriebenen Eigenschaften ausschließlich auf Grund feldunabhängiger Wechselwirkungen zustande kommen. Demnach müssen die in Abb. 21 und Abb. 22 gezeigten Spektren Hauptrichtungen des Stickstoff-Kopplungstensors darstellen.

Eine genaue Analyse der ESR-Daten der Gruppe B mit Hilfe der kristallinen Struktur der BU-Kristalle ist zur Zeit noch nicht möglich, da eine Röntgenfeinstruktur-Bestimmung dieser Komponente bislang nicht vorliegt. Es können jedoch schon eindeutige Schlüsse bezüglich der Art der gebildeten Radikale gezogen werden, welche in der Abb. 23 dargestellt sind. Durch Abstraktion des an den Stickstoff N_1 gebundenen Wasserstoffs entsteht das Radikal V. Ein Teil der Spindichte des ungepaarten Elektrons verbleibt am Stickstoff-Atom. Als Folge der Delokalisierung des Spins über Resonanzstrukturen bildet sich am Kohlenstoff C_5 ebenfalls eine Spindichte aus. Hieraus resultiert die starke Kopplung mit dem Brom-Kern in α -Position. Das an C_6 gebundene Proton befindet sich bezüglich der Atome N_1 und C_5 in β -Stellung. Da es in der Radikalebene liegt, kann keine Protonen-Aufspaltung beobachtet werden.

Weitere Resonanzstrukturen des Radikals V sind zwar noch möglich, jedoch kann den Spektren kein Hinweis auf ihr

Vorhandensein entnommen werden. Der Hauptteil der Spindichte des ungepaarten Elektrons muß daher an N_1 und O_5 lokalisiert sein.

3. β -2-Desoxy-D-Ribose

Die Strukturformel des Zuckers der DNS, β -2-Desoxy-D-Ribose, ist in Abb. 24 a angegeben. Auf die Schwierigkeiten der Kristallisation dieser Komponente wurde bereits im Abschnitt II.1 hingewiesen. Nach Furberg (1960) liegt das Molekül im Kristall als Pyranose vor und nimmt eine, im Vergleich zu den planaren Basen komplizierte Konformation nach Art eines "Liegestuhls" ein, welche ebenfalls in Abb. 24a dargestellt ist. Die äußere Form der Einkristalle, zusammen mit der Lage der benutzten ESR-Achsen wird in Abb. 24b gezeigt.

Zur Bestrahlung der Kristalle konnten Dosen von nur höchstens 0,4 Mrad angewendet werden (vgl. Abschnitt II.2). Die erhaltenen Spektren zeigen jedoch ein für die Auswertung noch hinreichend gutes Signal-Rausch-Verhältnis. In Abb. 25 wird ein Spektrum in einer Orientierung gezeigt, bei welcher das Magnetfeld parallel zur ab-Ebene des Kristalls verläuft. Es besteht im wesentlichen aus fünf äquidistanten Linien mit einer Aufspaltung von 10,5 Gauss und einem Amplitudenverhältnis von angenähert 1:4:6:4:1. Die theoretischen Linienpositionen des zugehörigen Radikals sind unter dem Spektrum angegeben. Die Quintett-Gruppe erweist sich bei der Drehung des Kristalls um die c-Achse als nahezu isotrop hinsichtlich ihrer Aufspaltung und ihres g-Faktors. Die Hyperfein-Kopplung variiert zwischen 10 und 11 Gauss. Der g-Faktor beträgt etwa 2,0054. In einigen Orientierungen der ab-Ebene zeigt das Quintett eine zusätzliche Hyperfein-Struktur. Durch Aufnahme der Spektren in kleinen Winkelschritten konnte diese als von zwei magnetisch inäquivalenten Molekülpositionen im Kristall herrührend gedeutet werden (Positionsaufspaltung). Dadurch

entstehen zwei Quintett-Gruppen mit leicht unterschiedlichem g-Faktor. Die größte Aufspaltung jeder der fünf Linien von etwa 4 Gauss wurde entlang den Achsen a und b erhalten und entspricht einer Differenz der g-Faktoren von $6,5 \cdot 10^{-4}$. Die Genauigkeit der Bestimmung des oben genannten Wertes für den g-Faktor wird dadurch nur unbedeutend beeinflusst. Die Drehung der Kristalle um die beiden anderen Achsen, a' und b', erbrachte für das Quintett ähnliche Ergebnisse. Der g-Faktor variiert zwischen 2,0054 und 2,0045. Allerdings konnte in beiden Ebenen keine Positionsaufspaltung der Linien beobachtet werden.

Außer der vorherrschenden Gruppe von fünf Linien finden sich in den Spektren weitere Linien schwächerer Intensität, die auf eine Anwesenheit zusätzlicher Radikale deuten. Wegen ihrer geringen Amplituden kann ihnen jedoch keine Radikalstruktur zugeordnet werden. Nach dem Verlauf aller spektraler Linien in den drei orthogonalen Ebenen scheint der g-Faktor eines dieser Radikale leicht anisotrop zu sein. Alle Versuche, eine der Linien-Gruppen selektiv zu erzeugen oder zu unterdrücken, blieben wegen der sehr instabilen Eigenschaften der Kristalle nach Bestrahlung zumeist erfolglos. Die Ergebnisse einiger weniger Ausheiz-Experimente werden später besprochen.

Nachdem die isotropen Eigenschaften der dominierenden Quintett-Gruppe durch die Einkristall-Untersuchungen gesichert waren, konnten weitere Informationen über die Zahl und die Reaktionen der in Desoxyribose gebildeten Radikale auch aus Messungen an bestrahltem Pulver gewonnen werden, welche im X-Band (9,3 GHz) bei Zimmertemperatur durchgeführt wurden. In der Abb. 26 a und b werden die Spektren polykristalliner Proben von Desoxyribose nach Bestrahlung mit 1,2 Mrad bei 77 °K bzw. bei 300 °K gezeigt. Da die Aufspaltung der fünf Linien in beiden Fällen mit der entsprechenden Kopplung in den Kristall-Spektren des Q-Bands übereinstimmt, liegen ihr ausschließlich feldunabhängige Wechselwirkungen zugrunde.

Darüber hinaus bringt ein Vergleich der Spektren der Abb. 26a und b weitere interessante Einzelheiten zutage. Durch die unterschiedlichen Intensitäten der Quintett-Linien, die unter beiden Kurven angeführt sind, wird eine von der Bestrahlungstemperatur abhängige, verschieden starke Überlappung der fünf Linien mit Linien anderer Radikale ausgedrückt. Die Existenz zusätzlicher Radikale wird auch durch die mit Pfeilen markierten kleineren Satelliten-Linien anschaulich demonstriert. Nach dem Ausheizen beider Proben (40 min bei 60 °C) fällt die mittlere der Quintett-Linien stärker als alle anderen Linien ab, wodurch ein Amplitudenverhältnis von 1:4:5:3:1 entsteht (Abb. 27). Zudem sind die Satelliten-Linien verschwunden. Nach weiterem Ausheizen bei dieser Temperatur wird die Probe zu einer zähen Flüssigkeit, und die Radikale rekombinieren. Die Abb. 28 zeigt ein Spektrum, welches sehr kurz vor dem Verschwinden der Radikale erhalten wird. Die drei inneren Linien des Quintetts besitzen hier annähernd die gleiche Amplitude, wogegen das Verhältnis der Intensitäten der äußeren Linien zur mittleren der fünf Linien den theoretisch für das später zu diskutierende Radikal geforderten Wert von 1:6:1 annimmt. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß außer dem Radikal der vorherrschenden Quintett-Gruppe die Linien mindestens zweier weiterer Radikale in den Spektren von Desoxyribose vorliegen, von denen eines hitzebeständiger als das für das Quintett verantwortliche Radikal ist.

Analoge Messungen an bestrahlten polykristallinen Proben im Q-Band ergaben im allgemeinen Spektren mit denselben Merkmalen. Jedoch zeigte sich hier die Quintett-Gruppe stärker durch die anderen Linien gestört. Ein derartiges Verhalten kann leicht erklärt werden. Das Radikal, von dem nach den Einkristall-Untersuchungen bekannt ist, daß es einen anisotropen g-Faktor besitzt, muß mit dem hitzeresistenten Radikal identisch sein. Ein anisotropes Verhalten eines g-Faktors hat natürlich im Q-Band einen erheblich

größeren Einfluß auf die Spektren, als es im X-Band der Fall ist. Diese Zuordnung wird durch die wenigen erfolgreichen Ausheiz-Experimente mit Einkristallen unterstützt. Weitere Aussagen über zusätzlich zum Radikal des Quintetts gebildete Strukturen sind jedoch nicht möglich.

Das für die Quintett-Hyperfein-Struktur verantwortliche Radikal-Elektron muß wegen des gemessenen g-Faktors in einem $2p_z$ -Orbital eines Kohlenstoffatoms lokalisiert sein. Da die Aufspaltung der Linien isotrop ist, wird eine Wechselwirkung des Elektrons mit äquivalenten Protonen in β -Stellung zum Kohlenstoff angenommen. Die Anzahl der Protonen kann aus dem Intensitätsverhältnis der Linien zu vier bestimmt werden. Demnach muß das Radikal durch eines der Schemata A oder B in Abb. 29 darstellbar sein. Durch den Buchstaben R werden Gruppen ohne meßbare Hyperfein-Wechselwirkung angedeutet. Ein Vergleich beider Schemata mit der Strukturformel des Zuckermoleküls (Abb. 25a) macht deutlich, daß zur Radikalbildung molekulare Umstrukturierungen erforderlich sind. Diese sollten sich aus einer möglichst geringen Anzahl von Reaktionsschritten zusammensetzen. Somit könnte das Radikal in Schema A durch eine Abstraktion eines Wasserstoffs von C_3 oder C_4 bei anschließendem Austausch einer β -Hydroxyl-Gruppe mit einem γ -Wasserstoff gebildet werden. Solche Austauschreaktionen erscheinen für eine OH-Gruppe im Festkörper als unwahrscheinlich, wogegen atomarer Wasserstoff durchaus hierzu befähigt ist (Stirling, 1965). Damit bleibt nur das Schema B für eine nähere Betrachtung übrig. Es kann durch Abstraktion des an C_1 gebundenen Wasserstoffs entstehen, wobei als Folgereaktionen ein Bruch der C_1 -O- C_5 Sauerstoffbrücke und eine gleichzeitige Umlagerung atomaren Wasserstoffs von C_4 nach C_5 angenommen werden muß. Das so gebildete Radikal wird in Abb. 29b gezeigt. Es entsteht auch dann, wenn der Wasserstoff primär von einem anderen Atom als C_1 abstrahiert wird. In diesem Falle sind jedoch weitere Verschiebungen von Wasserstoff entlang der Kohlenstoff-Kette nötig.

Anhand der isotropen Aufspaltung durch die β -Methyl-Gruppe an C_5 dieses Radikals kann die Spindichte des ungepaarten Elektrons ρ_C an C_4 berechnet werden, wobei die Gl. 2 von Abschnitt III.3 unter Vernachlässigung der Konstanten B_0 benutzt wird (Heller und Mc Connell, 1960). Bei Zimmertemperatur rotieren die Methyl-Protonen um die C-C-Bindungsachse, so daß $\cos^2\Phi$ einen Mittelwert von 0,5 annimmt. Damit ergibt sich bei einer isotropen Aufspaltung von 10,5 Gauss für die Spindichte:

$$\rho_C = 0,42$$

Mit diesem Wert kann der unbekannte Diëder-Winkel des β -Protons an C_3 zu $\Phi = 45^\circ$ ermittelt werden.

Die α -Hydroxyl-Gruppe an C_4 ergibt bei diesem Radikal, im Gegensatz zu den C-OH-Fragmenten der Komponenten BU und BUDR (vgl. IV.2.B) keine meßbare Aufspaltung. Dies erklärt sich einerseits daraus, daß hier das OH-Proton nach Furberg (1960) an Wasserstoffbrücken-Bindungen zu Nachbarmolekülen im Kristall beteiligt ist, wodurch der Abstand r zwischen C_4 und dem OH-Proton stark heraufgesetzt wird. Damit verringert sich die anisotrope Wechselwirkung merklich, da sie proportional zu r^{-3} ist. Die isotrope Hydroxyl-Protonen-Kopplung nimmt in jedem Falle nur kleine Werte an (vgl. Tabelle 3). Da ihre Größe vom Diëder-Winkel abhängt, ist es leicht verständlich, daß sie nicht beobachtet wird, da auf Grund der nicht-planaren Struktur des Zucker-Moleküls ein entsprechender Winkel durchaus den Bindungsverhältnissen entspricht.

Da die spektralen Parameter des Quintetts isotrop, d.h. ohne Vorzugsrichtung sind, kann die kristalline Struktur der Desoxyribose nicht zur Stützung des angenommenen Radikals herangezogen werden. Jedoch mag hierfür eine Reihe von Befunden aus der Radiolyse von Kohlehydraten im festen Zustand dienen. Die Abstraktion atomaren Wasserstoffs wird ganz allgemein bei der Bestrahlung gesättigter organischer Sub-

stanzen beobachtet. Auch für Desoxyribose hat Jacobs (1962) diesen Prozeß als wesentliches Ereignis der Strahlenwirkung gefolgert, so daß dieser Schritt der Radikalbildung als gesichert anzusehen ist. Der als Folgereaktion angenommene Bruch der Sauerstoffbrücke unter Bildung einer C=O-Doppelbindung konnte durch Infrarot-Spektroskopie nachgewiesen werden. Die bestrahlten Proben ergaben gegenüber den Kontrollen eine starke Bande bei etwa 1730 cm^{-1} (Muhr, 1968), welche ohne Zweifel von C = O-Streckschwingungen herrührt.

Einige neuere Ergebnisse von ESR-Untersuchungen an bestrahlten Einkristallen von 3'-Cytidin-Phosphat (Snipes und Benson, 1968) und Cytidin (Gordy, im Druck) sind ebenfalls geeignet, den vorgeschlagenen Mechanismus der Radikalbildung in Desoxyribose zu unterstützen. In beiden Komponenten werden Radikale an der Ribose-Gruppe beobachtet. Das in Cytidin wird durch Abstraktion atomaren Wasserstoffs vom Kohlenstoff C_1 des Zuckers gebildet und ist an dieser Stelle stabilisiert. Das in 3'-Cytidin-Phosphat identifizierte Radikal entsteht auch durch diesen Prozess, ist aber weiteren Reaktionen unterworfen. Der gesamte Mechanismus der Bildung des Radikals in dieser Komponente besitzt eine starke Ähnlichkeit mit dem von uns für das Desoxyribose-Radikal vorgeschlagenen Modell. Allerdings fehlt hier der Wasserstoff-Transfer, was jedoch auf die unterschiedliche chemische Konfiguration von Ribose und Desoxyribose zurückzuführen ist. Letztere Substanz besitzt eine große Wahrscheinlichkeit für einen Protonen-Transfer. Dies geht schon aus der Tatsache hervor, daß freie Desoxyribose in wässrigen Lösungen als Furanose, im Kristall aber als Pyranose vorliegt. Auf Grund der in den beiden Absätzen angeführten Gründe darf das in Desoxyribose vorherrschend gebildete Radikal sowie der Mechanismus, der zu seiner Bildung führt, als gesichert angesehen werden.

4. Zusammenfassende Diskussion

Anhand der in den untersuchten Einkristallen identifizierten Radikalstrukturen soll versucht werden, einige Mechanismen der Strahlenwirkung auf Nukleinsäuren zu diskutieren, wobei natürlich eine Übertragung der Ergebnisse auf die Bedingungen "in vivo" nur mit Vorbehalten erfolgen kann. Im Zusammenhang mit den Befunden biologischer Untersuchungen erscheint aber eine Entwicklung von Modellen der Wirkungsmechanismen der Strahlung in biologischen Objekten und eine daraus resultierende Abschätzung der Bedeutung bestimmter Radikalstrukturen für den biologischen Strahlenschaden durchaus gerechtfertigt.

Das Triplet-Radikal der Adenin-Derivate (vgl. Abb. 6) gehört in die Gruppe von Basen-Radikalen ähnlicher Art, wie sie nach Bestrahlung von Nukleinsäure-Komponenten häufig erhalten werden. Sie entstehen durch Anlagerung von durch Strahlung freigesetztem atomarem Wasserstoff an eine Doppelbindung der ungesättigten Basen. In Purin-Derivaten wird zumeist die $N_7 = C_8$ Doppelbindung (Dertinger, 1967a, Alexander und Gordy, 1968), in Pyrimidinen die $C_5 = C_6$ Doppelbindung (Pruden, Snipes und Gordy, 1965; Cook, Elliott und Wyard, 1967; Dertinger, 1967c) angegriffen. Dieser Radikal-Typ kann auch erzeugt werden, indem man die Komponenten atomarem, thermischem Wasserstoff aus einer Gasentladung exponiert (Herak und Gordy, 1965; Holmes, Ingalls und Myers, 1967; Heller und Cole, 1965). Strahlenbiologisch gesehen stellen diese Radikale eine vergleichsweise stabile Basenveränderung dar, durch welche bei den Replikationsvorgängen eventuell Mutationen bewirkt werden könnten.

Bei den untersuchten Adenin-Derivaten ist ein Vergleich der relativen Ausbeuten des Triplets in den Spektren von Adenin-HCl und Adenosin-5'-Phosphat interessant. Auf Grund des starken Anwachsens des Triplets beim Übergang von der

Base zum Nukleotid kann geschlossen werden, daß diesem Radikal in Nukleinsäuren durchaus eine Bedeutung zukommt. Im Einklang hiermit wurde das Purin-Triplett auch in bestrahlter DNS schon beobachtet (Dorlet, van de Vorst und Bertinchamps, 1962). Ferner wird durch den großen Anteil des Triplettts an den Nukleotid-Spektren indirekt die Hypothese gestützt, daß der zu den Wasserstoffanlagerungsradikalen der Basen benötigte atomare Wasserstoff aus der Strahlenwirkung auf die Zuckergruppe resultiert. Hierauf wird bei der Besprechung der Ergebnisse der Einkristalle von Desoxyribose noch genauer eingegangen.

Die mögliche Bedeutung der breiten Singulett-Spektren der Adenin-Derivate, welche vielleicht einem Anion-Radikal der Base zugeschrieben werden können, läßt sich vorerst schwer abschätzen. Solche Radikale dürften in Nukleinsäuren nicht stabil sein, und ihre Umlagerungsprodukte sind unbekannt; Neuere Untersuchungen an Pyrimidin-Basen ergaben, daß in der Komponente Thymin aus einem Anion bei Anwesenheit von Wasserstoff das Anlagerungsradikal an der 5,6-Doppelbindung entsteht (Holroyd und Glass, 1968). Es ist daher möglich, auch Anionen der Purine als Vorstufe des Triplett-Radikals anzusehen. Eindeutige Aussagen können jedoch hierzu augenblicklich nicht gemacht werden.

Von Interesse sind die Ergebnisse der Untersuchungen an 5-Halo-Uracil-Derivaten, da von ihnen ein Beitrag zur Klärung des Mechanismus des in der Einleitung kurz erörterten BU-Effektes erwartet werden darf. Auf Grund biologischer Experimente ist bekannt, daß der Einbau von 5-Bromuracil oder 5-Joduracil in die DNS von Bakterien und Bakteriophagen zu einer Erhöhung der Strahlenempfindlichkeit dieser Objekte führt (Kaplan et al., 1962; Hotz und Zimmer, 1963). Aus der Fülle biologischer Befunde erscheint die Tatsache, dass der Effekt an E.coli-T-Phagen nach Bestrahlung mit UV-Licht und ionisierender Strahlung, nicht aber bei der Behandlung mit thermischen Wasserstoffatomen

beobachtet wird, Ansätze für eine Klärung des physikochemischen Mechanismus der Sensibilisierung zu bieten. Da die Inaktivierungsgeschwindigkeiten verschiedener nicht substituierter biologischer Systeme bei Einwirkung von atomarem Wasserstoff unter verschiedenen Bedingungen die gleichen Verhältnisse bilden wie bei ionisierender Bestrahlung (Jung, Kürzinger, 1968), darf angenommen werden, daß für den BU-Effekt ein Reaktionsschema verantwortlich ist, zu dessen Ausbildung thermischer Wasserstoff nicht befähigt ist.

Unter der Annahme einer engen Verknüpfung strahleninduzierter freier Radikale mit biologischen Inaktivierungsmechanismen muß, im Hinblick auf die Sensibilisierung, ein Vergleich der Radikalbildung in Thymin einerseits und in den 5-Halo-Uracil-Derivaten auf der anderen Seite erfolgen. Dabei fällt auf, daß ein C-OH-Radikalfragment (vgl. Abb. 16), wie es die substituierten Uracil-Komponenten aufweisen, in Thymin nicht beobachtet wird. Hingegen ist sonst der Prozess der Radikalbildung in beiden Komponenten generell identisch. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß in 5-Bromuracil nicht nur nach ionisierender Bestrahlung, sondern auch nach der Einwirkung von UV-Licht, das C-OH-Radikal gebildet wird, wie im Rahmen dieser Arbeit an Hand von Pulverspektren geprüft wurde. Andererseits ist bekannt, daß bei der Exposition von 5-Halo-Uracil-Basen mit atomarem Wasserstoff kein C-OH-Radikal gebildet wird, wohl aber die Wasserstoff-Anlagerungsradikale der 5,6-Doppelbindung, welche auch im Thymin unter diesen Bedingungen beobachtet werden (Herak und Gordy, 1966; Holmes, 1966). Demnach kann eine enge Verbindung des Radikal-Typs C-OH der 5-Halo-Uracil-Derivate mit der biologischen Sensibilisierung angenommen werden. Diese Hypothese stimmt auch mit dem Anwachsen der Strahlenempfindlichkeit von DNS mit erhöhtem Gehalt an Guanin-Cytosin Basenpaaren überein (Kaplan und Zavarine, 1962), da in Cytosin ebenfalls ein C-OH-Radikal beobachtet wird (Dertinger, 1967b).

Damit stellt sich die Frage, in welcher Weise die biologischen Objekte durch ein Radikal des Typs C-OH strahlenempfindlicher werden. Dies kann damit zusammenhängen, daß die normalerweise von der C=O Bindung ausgehenden Wasserstoff-Brücken in der DNS durch die Ausbildung des Radikals zerstört werden. Es tritt dann eine lokale Trennung der DNS-Stränge auf. Da andererseits bekannt ist (Kaplan, 1966), daß durch den Einbau von BU die Strangbruchrate bestrahlter DNS erhöht wird, kann man annehmen, daß durch die Bildung des C-OH Radikals, über eine lokale Denaturierung der DNS, das Bindungssystem der Polynukleotidkette labilisiert wird, so daß es häufiger zum Bruch der Kette kommt.

Obwohl die C-OH Gruppe vom Typus eines Wasserstoffanlagerungsradikals ist, sind thermische Wasserstoffatome zu ihrer Bildung nicht befähigt. Dies führt zu der Annahme, daß das Molekül sich vor der Anlagerung in einem Zustand befindet, welcher nur nach Einwirkung von UV-Licht und ionisierender Strahlung gebildet werden kann. In diesem Zusammenhang erscheint es bedeutsam, daß alle Pyrimidin-Abkömmlinge, in denen bislang ein C-OH Radikal beobachtet wurde, verglichen mit Thymin, auf Grund des unterschiedlichen Substituenten an der Position C₅ des Basen-Ringes, elektronegative Eigenschaften besitzen. Dadurch wird der Schluß nahegelegt, daß ein Pyrimidin-Anion als Vorstufe des C-OH-Radikals anzusehen ist, da mit wachsender Elektronegativität des substituierten Pyrimidins die Wahrscheinlichkeit der Bildung eines C-OH Radikals zunimmt.

Diese Hypothese ist im Einklang mit jüngsten Ergebnissen über die Reaktion der Pyrimidine mit Elektronen und Protonen (Holroyd und Glass, 1968). Diese Autoren berichten, daß bei Zufuhr von Protonen zum Anion des Thymin das Wasserstoffanlagerungsradikal an der 5,6 Doppelbindung entsteht, wie es auch nach Exposition mit atomarem Wasserstoff und bei Einwirkung ionisierender Strahlung in dieser Komponente gebildet wird. Hingegen muß auf Grund ihrer Spektren

angenommen werden, daß in den elektronegativeren Substanzen Uracil und Cytosin aus dem Anion unter diesen Bedingungen ein C-OH Radikal resultiert. Damit erscheint gesichert, daß die Wahrscheinlichkeit der Bildung eines C-OH Radikals nach vorangegangener Ionisierung mit der Elektronegativität der Pyrimidine zunimmt.

Es verbleibt die Frage nach der Herkunft des zur Ausbildung eines C-OH Radikalfragments benötigten Wasserstoffs. Dertinger (1967c) nahm auf Grund von Deuterierungsversuchen an, daß in der Base Cytosin ein großer Teil des Wasserstoffs aus der Zerstörung des Wasserstoff-Brückensystems herrührt. Ähnlich sind auch die Befunde von Snipes und Benson (1968) zu interpretieren. Andererseits weisen die vorgelegten Untersuchungen deuterierter Einkristalle von 5-Bromdesoxyuridin und 5-Joddesoxyuridin darauf hin, daß bei Nukleosiden der Wasserstoff von nicht durch Deuterium austauschbaren Positionen stammt. Damit kommt neben dem Wasserstoff-Brückensystem in Nukleinsäuren vor allem noch die Zuckergruppe als Ursprungsort in Betracht.

Diese Annahme stimmt mit den bisherigen, zumeist indirekten Befunden über die Strahlenwirkung auf die Pentose-Gruppe der DNS überein, auf die im folgenden im Zusammenhang mit den an bestrahlten Einkristallen von Desoxyribose gewonnenen Ergebnissen eingegangen werden soll. Die Untersuchungen über die Wirkung von Strahlung auf Nukleinsäuren ergaben, daß dem strahleninduzierten atomaren Wasserstoff eine erhebliche Bedeutung bei der Inaktivierung zukommt. Dies konnte etwa aus der Tatsache geschlossen werden, daß es sich bei nahezu allen bislang identifizierten Radikalen in Nukleinsäure-Komponenten um Wasserstoffanlagerungsradikale der Basen handelt. Ferner wurde durch ESR-Messungen bei tiefen Temperaturen nachgewiesen, daß atomarer Wasserstoff in bestrahlten Bakteriophagen und deren DNS mit grosser Ausbeute entsteht (Müller und Dertinger, 1968). Darüber hinaus trugen die bei Experimenten über die Temperaturab-

hängigkeit der Inaktivierung biologischer Systeme erhaltenen Aktivierungsenergien ebenfalls zur Hypothese bei, daß atomarer Wasserstoff als strahlenerzeugtes diffusibles Radikal für einen großen Teil der indirekten Schäden verantwortlich ist (Hermann, 1966). In letzter Zeit gelang auch der direkte Nachweis der Fähigkeit thermischen Wasserstoffs zur Inaktivierung trockener biologischer Objekte, wobei, in Analogie zur ionisierenden Bestrahlung ein exponentieller Verlauf der Überlebenskurven erhalten wird (Jung und Kürzinger, 1968). Außerdem ergeben sich bei der Temperaturabhängigkeit der Inaktivierung nach Exposition der Objekte mit atomarem Wasserstoff zwischen 100° und 300° K die gleichen Aktivierungsenergien, wie bei ionisierender Strahlung (Kürzinger, 1969). Aus einer Reihe von Befunden konnte gefolgert werden, daß der durch Bestrahlung von Nukleinsäuren freigesetzte Wasserstoff als Folge der Strahlenwirkung auf die Zucker-Gruppe entsteht. Quantitative ESR-Untersuchungen ergaben, daß die Radikalausbeuten trockener Nukleinsäure-Bestandteile in der Reihenfolge Base, Nukleosid, Nukleotid und Pentose ansteigen. Da sich andererseits die in Nukleosiden und Nukleotiden beobachteten Radikale, wie bereits erörtert, als Wasserstoffanlagerungsradikale der Basen erwiesen, wurde auf einen Transfer von radiolytisch erzeugtem Wasserstoff vom Zucker zur Base geschlossen. Diese Annahme konnte durch ESR-Spektren bestrahlter molekularer Mischungen von Thymin und Desoxyribose gestützt werden (Müller, 1968).

Die vorgelegten Untersuchungen über die Radikalbildung in Desoxyribose können als direkter Beweis für die Hypothese angesehen werden, daß der nach Bestrahlung von DNS freigesetzte atomare Wasserstoff von der Zucker-Gruppe herrührt, da hier zum ersten Male ein Baustein der DNS vorliegt, dessen Radikal durch Abstraktion von Wasserstoff entsteht (Abb. 29b). Es ist daher wahrscheinlich, daß es dieser Wasserstoff ist, welcher zu den beobachteten Anla-

gerungsradikalen der Basen führt und der einen erheblichen Anteil an der Inaktivierung der DNS durch Strahlung besitzt.

Aussagen über die zu einem Strangbruch der DNS führenden Mechanismen lassen sich aus dem in Desoxyribose vorherrschend gebildeten Radikal (Abb. 29b) nicht direkt ableiten. Es erscheint jedoch plausibel anzunehmen, daß es eine Vorstufe eines völligen Bruchs des Pentose-Rings darstellt, wie er etwa nach Auflösen des bestrahlten Zuckers in Wasser auftritt. So hat Jacobs (1962) gefunden, daß nach Zugabe von Wasser zu bestrahlten trockenen Zuckern eine Produktion flüchtiger Fragmente erfolgte. Wie er der Veränderung der Infrarot-Spektren entnehmen konnte, wurden diese Fragmente nicht einfach aus dem Gitter durch den Lösungsprozeß freigesetzt. Vielmehr erfolgten durch die Zugabe des Wassers chemische Reaktionen, die zu der Bildung der Produkte führte. Es darf daher angenommen werden, daß auf Grund der Reaktionen des im Zucker vorherrschend gebildeten Radikals dieses sich in Nukleinsäuren bei Anwendung der biologischen Testmethoden als Strangbruch manifestiert. Hierzu sind jedoch noch eingehende Untersuchungen erforderlich. Als aussichtsreiche ESR-Experimente sollten vor allem Einkristalluntersuchungen dieser Komponente bei tiefen Temperaturen genannt werden.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe der Elektronenspin-Resonanz-Spektroskopie die durch Strahlung erzeugten freien Radikale in Einkristallen der Nukleinsäure-Komponenten Adenin·HCl, Adenosin-5'-Phosphat, 5-Bromuracil, 5-Bromdesoxyuridin, 5-Joddesoxyuridin und β -2-Desoxy-D-Ribose untersucht. Aus diesen Komponenten wurden Einkristalle gezüchtet und bei 35 GHz nach Bestrahlung ausgemessen. Die Parameter des Spin Hamilton Operators der jeweiligen

Radikale wurde mit Hilfe eines Rechenprogrammes aus dem orientierungsabhängigen Verlauf der ESR-Spektren der Kristalle gewonnen. Damit konnte, im Zusammenhang mit kristallographischen Befunden, eine Zuordnung der Spektren zu definierten Radikalstrukturen in den Komponenten vorgenommen werden. Ferner wurden erstmals Einflüsse der Quadrupol-Wechselwirkungen von Brom und Jod auf die ESR-Spektren organischer Radikale untersucht und diskutiert.

Die erhaltenen Ergebnisse ermöglichten eine eingehende Diskussion der Mechanismen der Strahlenwirkung auf Nucleinsäuren.

VI. Literaturverzeichnis

Alexander, Jr., C. und Gordy, W. (1968)
Electron spin resonance of an irradiated single crystal of
guanine hydrochloride dihydrate.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 58, 1279-87

Baudet, J., Berthier, G. und Pullman, B. (1962)
Recherches théorétiques sur la répartition des densités
de spin dans les molécules d'intérêt biochimique.
Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris) 254, 762-4

Bernhard, W. und Snipes, W. (1968)
Electron spin resonance of a gamma-irradiated single
crystal of 3'-cytidilic acid.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 59, 1038-44

Braams, R. (1963)
A mechanism for the direct action of ionizing radiations.
Nature 200, 752-4

Broomhead, J.M. (1948)
The structures of pyrimidines and purines.
II. A determination of the structure of adenine hydro-
chloride by X-ray methods.
Acta Cryst. 1, 324-9

Camerman, N. und Trotter, J. (1965)
The crystal and molecular structure of 5-Iodo-2'-deoxy-
uridine.
Acta Cryst. 18, 203-11

Carrington, A. und McLachlan, A.D. (1967)
Introduction to Magnetic Resonance.
Harper & Row

Combrisson, J. und Uebersfeld, J. (1954)

Détection de la résonance paramagnétique dans certaines substances organiques irradiées.

Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris) 238, 1397-8

Cook, J.B., Elliot, J.P. und Wyard, S.J. (1967)

Electron spin resonance of an irradiated single crystal of cytosine.

Mol. Phys. 13, 49-64

Dertinger, H. (1967a)

Freie Radikale in bestrahlten Einkristallen von Purin-Nucleosiden: Adenosin, Desoxyadenosin und Desoxyguanosin.

Z. f. Naturforschung 22b, 1261-66

Dertinger, H. (1967b)

Der Ursprung des ESR-Dubletts in der Nucleinsäurebase Cytosin: eine Einkristallstudie bei 8 mm Wellenlänge.

Z. f. Naturforschung 22b, 1266-69

Dertinger, H. (1967c)

Die Identifizierung freier Radikale in bestrahlten Einkristallen einiger Nucleinsäurekomponenten mittels Elektronenspin-Resonanz bei 8 mm Wellenlänge.

Dissertation / Universität Heidelberg

Dorlet, C., van de Vorst, A. und Bertinchamps, A.J. (1962)

Electron spin resonance in γ -irradiated deoxyribonucleic acid.

Nature 194, 767

Fermi, E. (1930)

Über die magnetischen Momente der Atomkerne.

Z. f. Physik 60, 320-33

Furberg, S. (1960)

The structure of 2-Deoxy-ribose.

Acta Chem. Scand. 14, 1357-63

Gordy, W.

Free radicals from biological purines and pyrimidines.
Proc. N.Y. Acad. Sci., im Druck

Gordy, W., Ard, W.B. und Shields, H. (1955)

Microwave spectroscopy of biological substances.

I. Paramagnetic resonance in X-irradiated amino acids
and proteins.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 41, 983-96

Hagen, U. (1967)

Bestimmung von Einzel- und Doppelbrüchen in bestrahlter
Desoxyribonukleinsäure durch die Molekulargewichtsver-
teilung.

Biochim. Biophys. Acta 134, 45-58

Hart, E.J. und Platzman, R.L. (1961)

Radiation Chemistry.

In: Mechanisms in Radiobiology. I. General Principles.

Herausgeber: M. Errera und A. Forssberg, Academic Press,
New York und London

Heller, C. und McConnell, H. (1960)

Radiation damage in organic crystals.

II. Electron spin resonance of $(\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2\dot{\text{C}}\text{H}(\text{CO}_2\text{H})$ in
 β -succinic acid.

J. Chem. Phys. 32, 1535-39

Heller, H.C. and Cole, T. (1965)

The reaction of hydrogen atoms with thymine and DNA.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 54, 1486-90

Herak, J.N. und Gordy, W. (1966)

Interaction of hydrogen atoms and hydroxyl radicals
with 5-halogen-uracils.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 56, 1354-60

Herak, J.N. und Gordy, W. (1965)

Free radicals formed by hydrogen atom bombardment of the nucleic acid bases.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 54, 1287-92

Hermann, K.O. (1966)

Der Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit von T1-Bakteriophagen.

Z. f. Naturforschung 21b, 678-82

Holmes, D.E. (1966)

Reactions of hydrogen atoms and hydroxyl free radicals with nucleic acids, nucleic acid constituents and constituents analogues: an electron spin resonance study.

Thesis / University of California, Los Angeles

Holmes, D.E., Ingalls, R.B. und Myers, L.S. (1967)

An E.S.R. study of free radicals formed by reaction of nucleotides and their constituents with hydrogen atoms.

Int. J. Radiat. Biol. 12, 415-26

Holroyd, R.A. und Glass, J.W. (1968)

Radicals formed by electron transfer to pyrimidine derivatives.

Int. J. Radiat. Biol. 14, 445-52

Hotz, G. (1968)

On the mechanism of radiosensitization by 5-Bromouracil. Studies on ⁶⁰Co-gamma irradiated phage ØX-174 and its single stranded infections DNA.

Molec. Gen. Genetics 102, 44-49

Hotz, G. und Zimmer, K.G. (1963)

Experiments in radiation chemistry of T1-phage.

Intern. J. Radiat. Biol. 7, 55

Iball, J., Morgan, C.H. und Wilson, H.R. (1966)
The crystal and molecular structures of 5-bromo-2'-deoxy-
uridine and 5-bromouridine.

Proc. Roy. Soc. (London), Ser. A 295, 320-33

Ingram, D.J.E. (1958)

Free radicals as studied by electron spin resonance.

Butterworth, London

Jacobs, S.S. (1962)

The solid state gamma irradiation of crystalline amino
acids and sugars.

Thesis / University of Colorado

Jung, H. und Kürzinger, K. (1968)

Inactivation of bacteriophage, DNA, and ribonuclease by
thermal hydrogen atoms.

Radiat. Res. 36, 369-83 (1968)

Kaplan, H.S. (1966)

DNA-Strand scission and loss of viability after X-Irradiation
of normal and sensitized bacterial cells.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 55, 1442-46

Kaplan, H.S., Smith, K.C. und Tomlin, P.A. (1962)

Effect of halogenated pyrimidines on radiosensitivity of
E.coli.

Radiat. Res. 16, 98-113

Kaplan, H.S. und Zavarine, R. (1962)

Correlation of bacterial radiosensitivity and DNA-base
composition.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 8, 432-36

Köhnlein, W. (1963)

Elektronen-Spin-Resonanzen in bestrahlten Bakteriophagen
und deren Bestandteilen.

II. Mitteilung.

Strahlentherapie 122, 437-48

Kraut, J. und Jensen, L.H. (1960)

Crystal structure of adenosine-5'-phosphate.

Nature 186, 798

Kürzinger, K. (1969)

Untersuchungen über physiko-chemische Sekundärprozesse bei ionisierender Bestrahlung makromolekularer biologischer Objekte im Trockenem.

Dissertation / Universität Karlsruhe

Lacroix, M., Deprieux, J. und van de Vorst, A. (1967)

On the nature of free radicals induced by X-rays in puric bases.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 58, 399-401

Lichter, J.J. und Gordy, W. (1968)

Electron spin resonance of an irradiated single crystal of deoxyadenosine monohydrate.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 60, 450-55

Lund, A. und Vänngård, T. (1965)

Note on the determination of the principal fine and hyperfine coupling constants in ESR.

J. Chem. Phys. 42, 2979-80

McConnell, H.M. und Chestnut, D.B. (1958)

Theory of isotropic hyperfine interaction in π -electron radicals.

J. Chem. Phys. 28, 107-17

Müller, A. (1968)

Zum Mechanismus der Strahlenschädigung von DNS.

In: Molekulare Struktur und Strahlenwirkung, S. 147-50

Herausgeber: H. Glubrecht et al.

G. Thieme, Stuttgart

- Müller, A. (1964)
Spektrographische Untersuchungen mittels paramagnetischer
Elektronenresonanz über die Wirkung ionisierender Strah-
len auf elementare biologische Objekte.
Habilitationsschrift / Verlag der Akademie der Wissen-
schaften und der Literatur in Mainz
- Müller, A. und Dertinger, H. (1968)
Die Erzeugung atomaren Wasserstoffs in γ -bestrahlten
Bakteriophagen und in deren DNS.
Z. f. Naturforschung 23b, 83-9
- Muhr, W. (1968)
Persönliche Mitteilung.
- Pershan, P.S., Shulman, R.G., Wyluda, B.J. und
Eisinger, J. (1964)
Electron spin resonance of irradiated DNA.
Physics 1, 163-82
- Platzman, R.L. (1958)
The physical and chemical basis of mechanisms in
radiation biology.
In: Radiation Biology and Medicine, S. 15-72
Herausgeber: W.D. Claus / Addison-Wesley, Reading, Mass.
- Pooley, D. und Whiffen, D.H. (1962)
The electron resonance spectrum of $\text{HCCl}(\text{CO}_2\text{H})$.
Spectrochim. Acta 18, 291-98
- Pruden, B.L., Snipes, W. und Gordy, W. (1965)
Electron spin resonance of an irradiated single crystal
of thymidine.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 53, 917-24
- Pullman, B. und Mantione, M.J. (1965)
Sur les densités de spin dans les radicaux libres
provenant de bases puriques et pyrimidiques par fixation
d'un atome d'hydrogène.
Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris) 260, 5643-45

Schneider, W. (1967)

Persönliche Mitteilung.

Schonland, D.S. (1959)

On the determination of principal g-values in electron spin resonance.

Proc. Phys. Soc. 73, 788-92

Shcherbakova, M.Y., Ishchenko, V.T. und Savinov, V.A. (1965)

Ein universeller Kristallhalter zum Studium der EPR-Spektren von Einkristallen (russ.).

Pribory i tekhnika eksperimenta 6, 203-4

Shrivastava, K.N. und Anderson, R.S. (1968)

Electron spin resonance study of γ -irradiated single crystals of semicarbazide hydrochloride.

J. Chem. Phys. 48, 4599-604

Slichter, C.P. (1964)

Principles of magnetic resonance.

Harper & Row

Snipes, W. und Benson, B. (1968)

Electron spin resonance of a gamma-irradiated single crystal of 5-Nitro-6-methyl-uracil.

J. Chem. Phys. 48, 4666-70

Stirling, C.J.M. (1965)

Radicals in Organic Chemistry.

Oldbourne Press, London

Weitz, G. (1968)

Persönliche Mitteilung.

Whiffen, D.H.

The hydrogen hyperfine coupling of C-CHR₂ and C-OH groups.

In: La structure hyperfine magnétique des atomes et des molécules, pp. 169-75

Colloque internationale du Centre National de la Recherche Scientifique, No 164, Paris, 20-24 juin, 1966

Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris 1967

Zimmer, K.G., Ehrenberg, L. und Ehrenberg, A. (1957)

Nachweis langlebiger magnetischer Zentren in bestrahlten biologischen Medien und deren Bedeutung für die Strahlenbiologie.

Strahlentherapie 130, 3-15

Tabelle 1: Zusammenstellung der untersuchten Einkristalle und ihrer Eigenschaften

Substanz	Lösungsmittel	Raumgruppe	Moleküle pro Elementarzelle	Dimension der Elementarzelle	Literatur
Adenin·HCl	H ₂ O	(P2/c monoklin)	(4)	(a = 8,41 Å b = 4,80 Å c = 20,0 Å)	Broomhead, 1948
Adenosin- 5'-Phosphat	H ₂ O (+HCl)	(P2 ₁ monoklin)	(2)	(a = 12,77 Å b = 11,82 Å c = 4,88 Å)	Kraut und Jensen, 1960
5-Bromuracil ^b	H ₂ O	C2/m monoklin	4	a = 7,1 Å b = 14,1 Å c = 11,4 Å	-
5-Bromdesoxy- uridin ^a	H ₂ O / D ₂ O	P2 ₁ monoklin	2	a = 9,1 Å b = 5,12 Å c = 12,0 Å	Iball, Morgan und Wilson, 1966
5-Joddesoxy- uridin ^b	H ₂ O / D ₂ O	P1 triklin	1	a = 5 Å	Camerman und Trotter, 1965
β-2-Desoxy-D- Ribose ^a	Aceton	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ orthorhombisch	4	a = 11,36 Å b = 10,62 Å c = 4,83 Å	Furberg, 1960

a: Daten nach Schneider (1967)

b: Daten nach Weitz (1968)

Tabelle 2: Hauptwerte des g -Tensors und der Hyperfein-Aufspaltung (in Gauss) des Dubletts in JUDR.

	Hauptwerte	Isotrope Komponente	Richtungskosinus		
			b'	c'	a'
H(α)	(-) 25.48	(-) 17.49	0.88	0.41	-0.26
	(-) 12.82		-0.42	0.91	≈ 0
	(-) 14.16		0.23	0.12	0.96
g	2.00604		0.93	0.29	0.21
	2.00405		-0.36	0.75	-0.56
	2.00067		≈ 0	0.60	0.80

Tabelle 3: Hauptwerte des g-Tensors und der Hyperfein-Aufspaltung (in Gauss) für das Dublett in BUDR.

	Hauptwerte	Isotrope Komponente	Richtungskosinus		
			c	b	a'
H(OH)	5.47	4.97	0.04	0.84	0.53
	0.91		0.99	0.02	-0.12
	8.53		0.11	-0.54	0.83
g	2.00382		0.08	0.99	0.09
	2.00761		0.77	-0.12	0.62
	2.00417		-0.62	-0.02	0.78

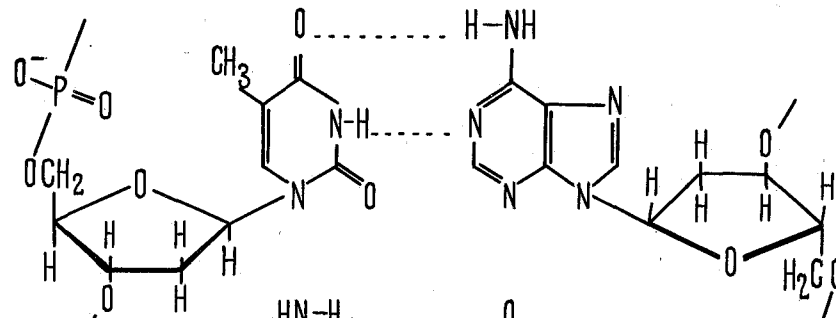
Tabelle 4: Hauptwerte des g-Tensors des Radikals (IV) in JUDR und BUDR.

	Hauptwerte	Richtungskosinus		
		b'	c'	a'
g (JUDR)	1.99847	0.93	0.14	0.32
	2.03872	-0.04	0.94	-0.32
	2.08482	-0.35	0.29	0.88
g (BUDR)	2.00967	-0.06	0.99	0
	2.01072	0.01	0.05	0.99
	2.02292	0.99	0.06	0

VII. Abbildungen

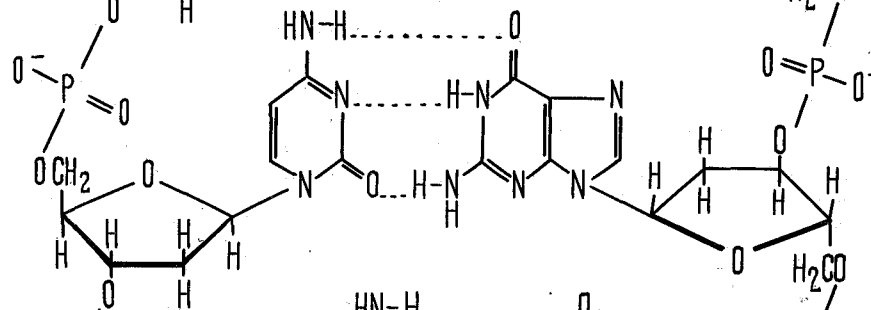
Abb. 1: Schematischer molekularer Aufbau einer doppelsträngigen DNS

Thymidin-
monophosphat



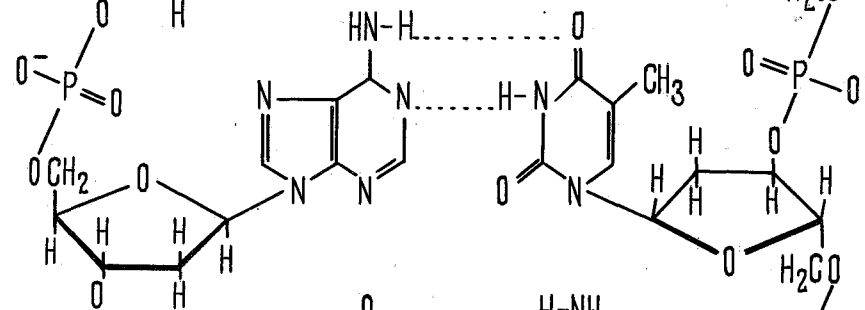
Desoxyadenosin-
monophosphat

Desoxycytidin-
monophosphat



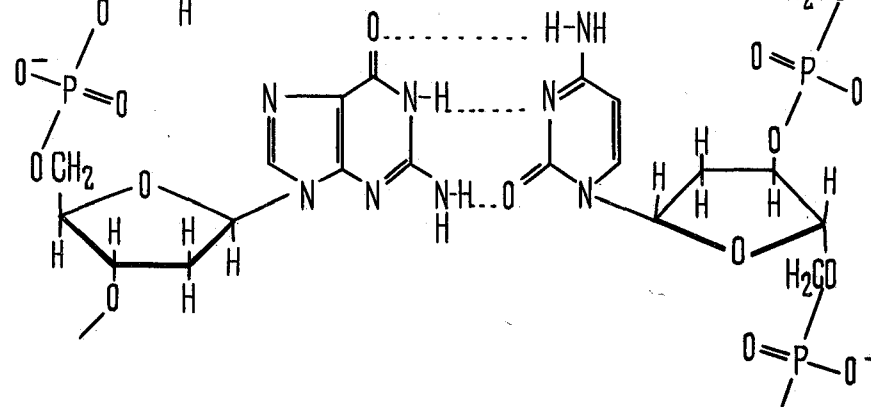
Desoxyguanosin-
monophosphat

Desoxyadenosin-
monophosphat



Thymidin-
monophosphat

Desoxyguanosin-
monophosphat



Desoxycytidin-
monophosphat

- Abb. 2: a) Strukturformel von Adenin·HCl
b) Äußere Form der Kristalle von Adenin·HCl
und Lage des ESR-Achsen-systems x, y, z

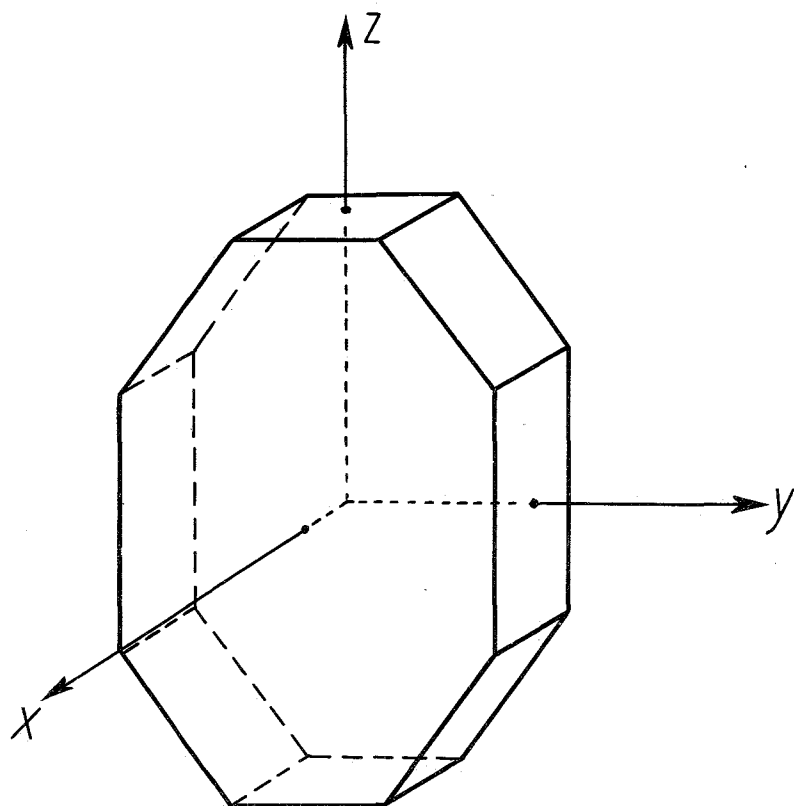
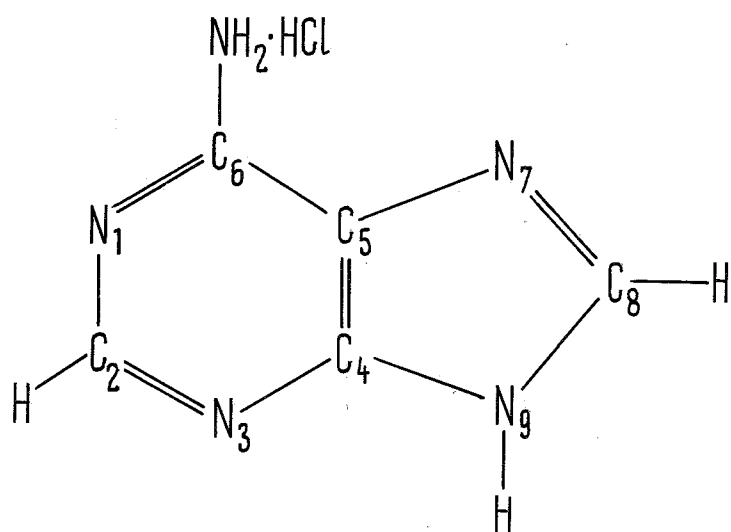
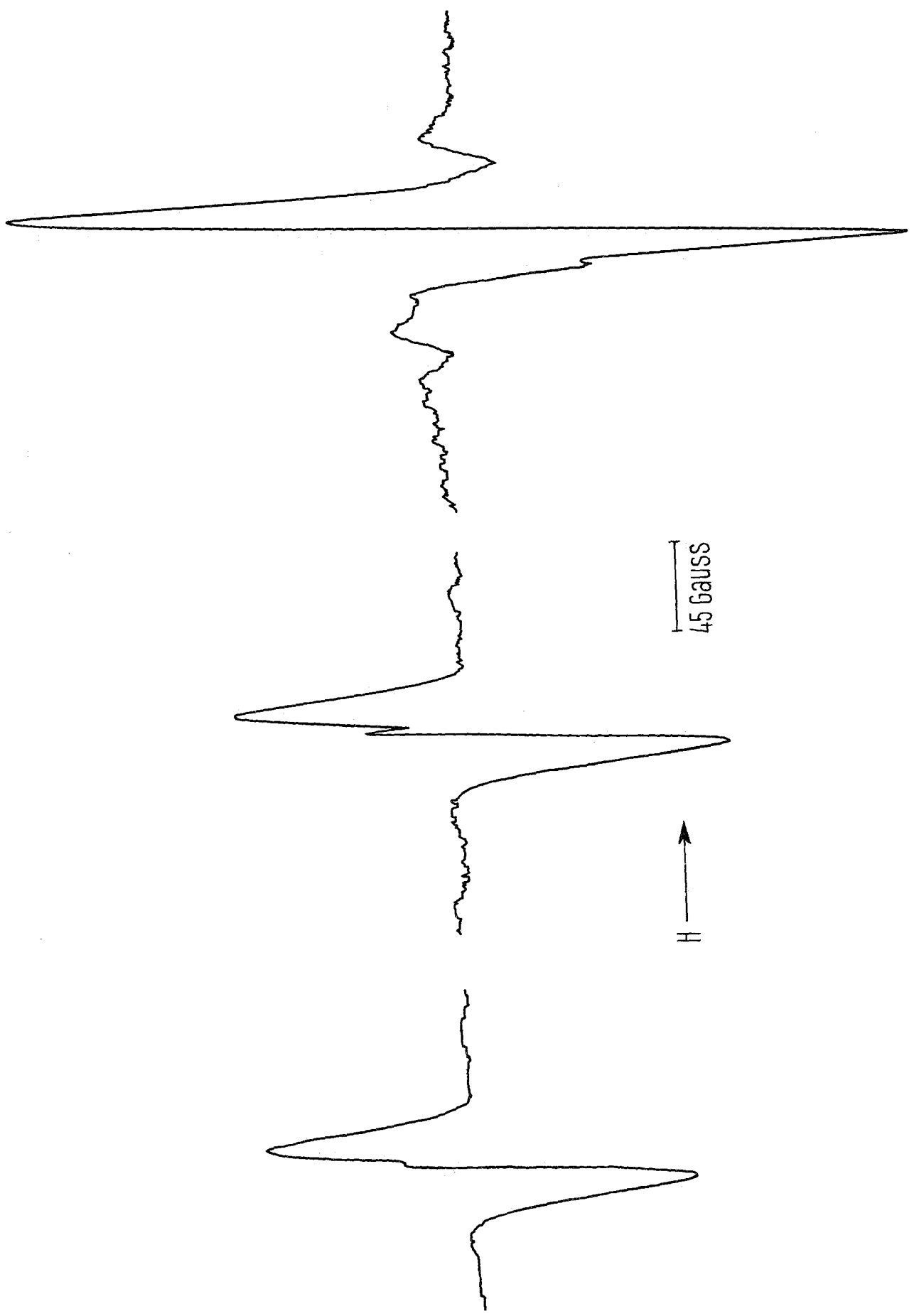


Abb. 3: ESR-Spektren der Einkristalle von Adenin·HCl
in Orientierungen, in denen die drei spektralen
Komponenten erkennbar sind (von links):

- a) Breites Singulett
- b) Überlagertes scharfes Singulett
- c) Überlagertes Triplett



45 Gauss

H →

Abb. 4: Strukturformel von Adenin-5'-Phosphat

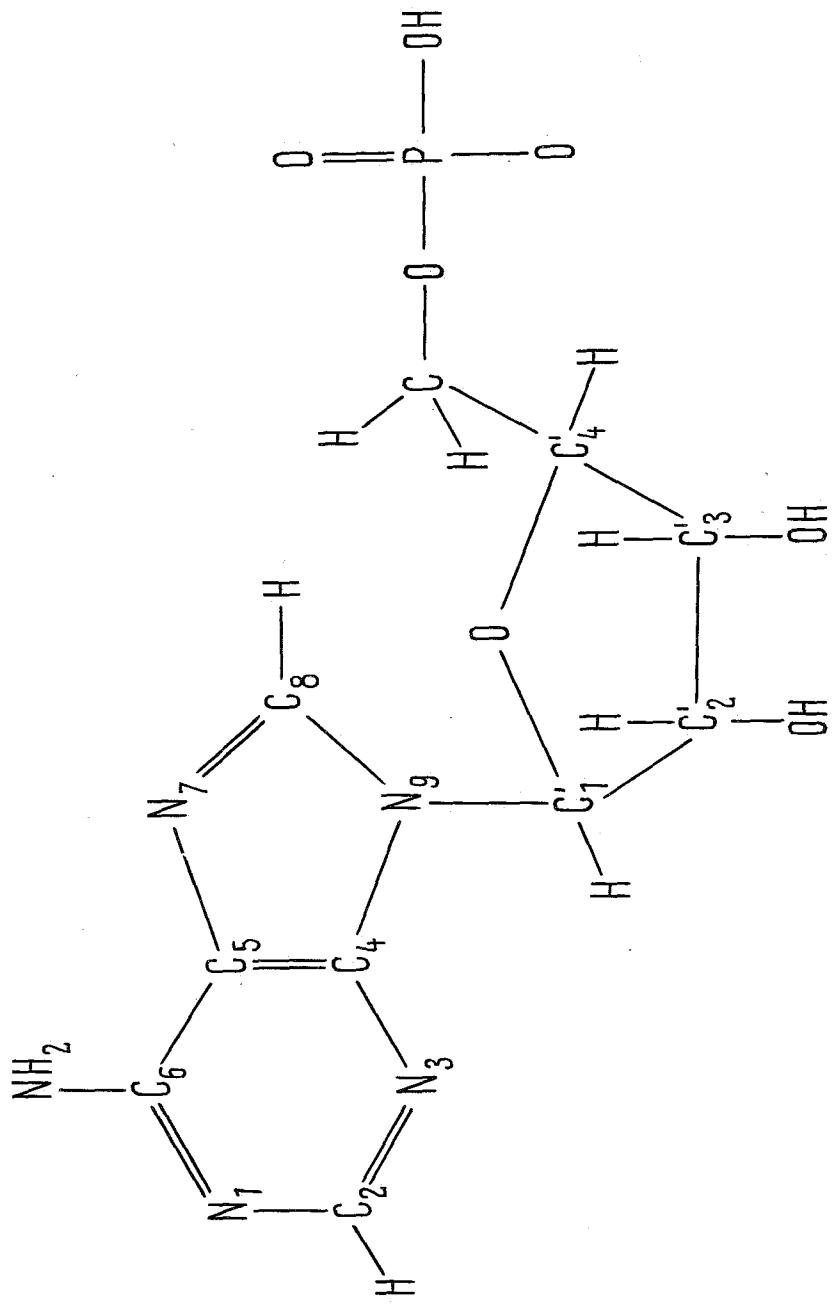


Abb. 5: ESR-Spektrum der Einkristalle von Adenosin-5'-
Phosphat

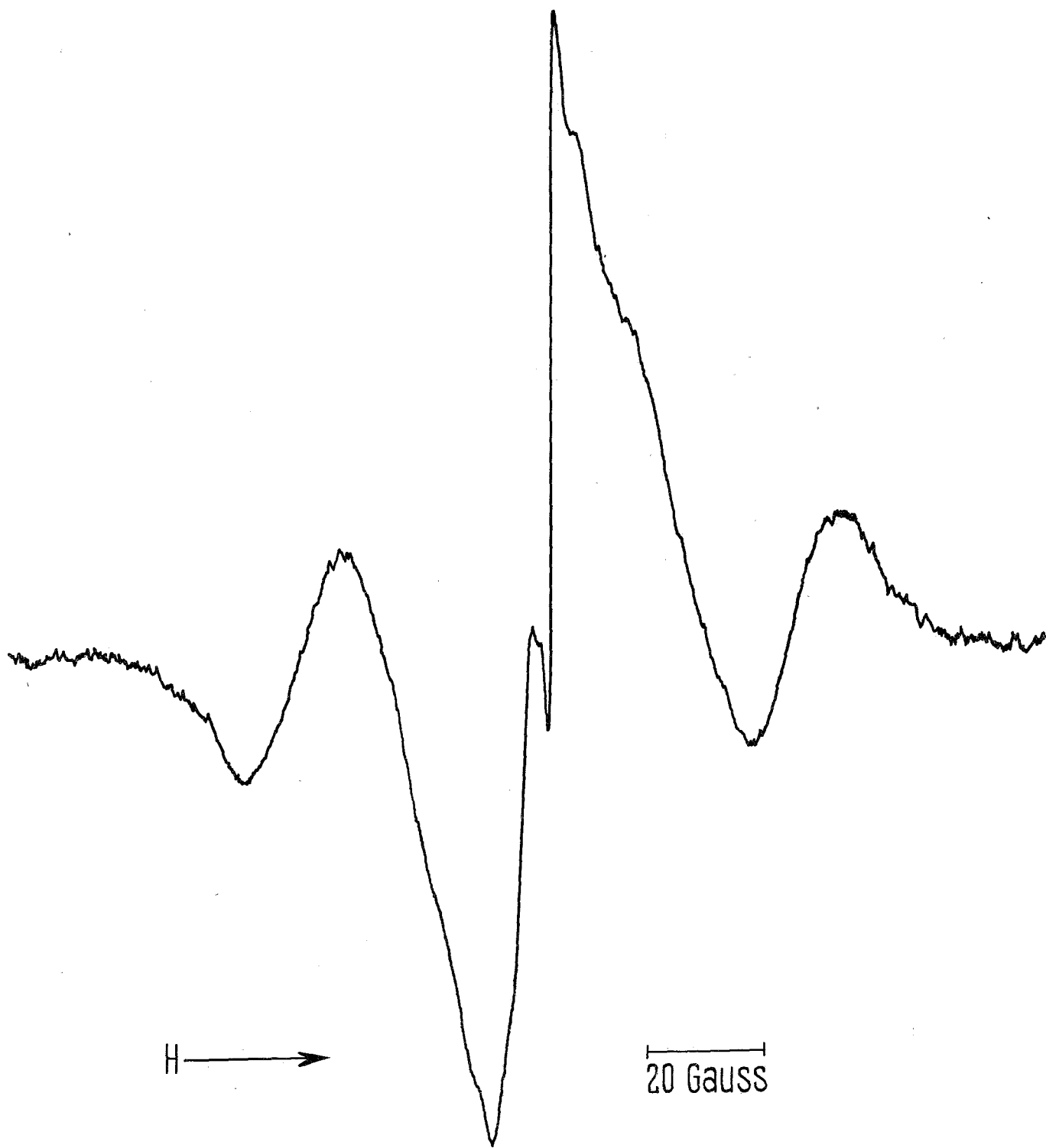


Abb. 6: Strukturformeln der möglichen Radikale des
Triplet-Spektrums der Adenin-Derivate:

a) Wasserstoffanlagerung an C₈

b) Wasserstoffanlagerung an C₂

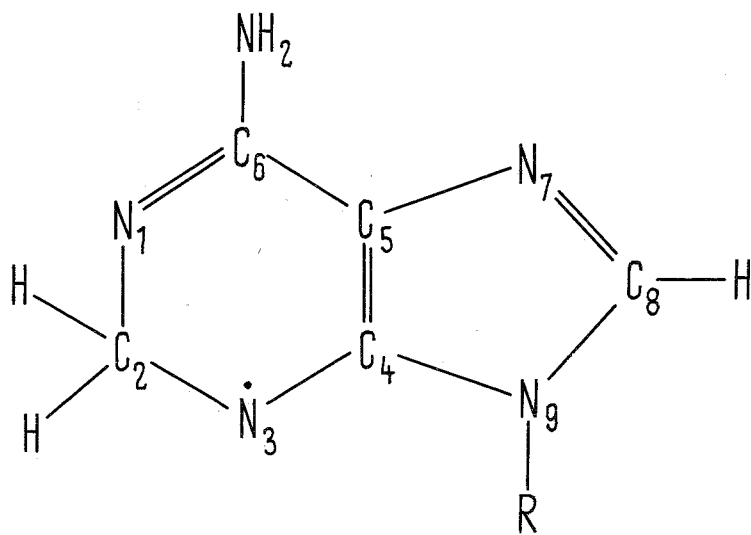
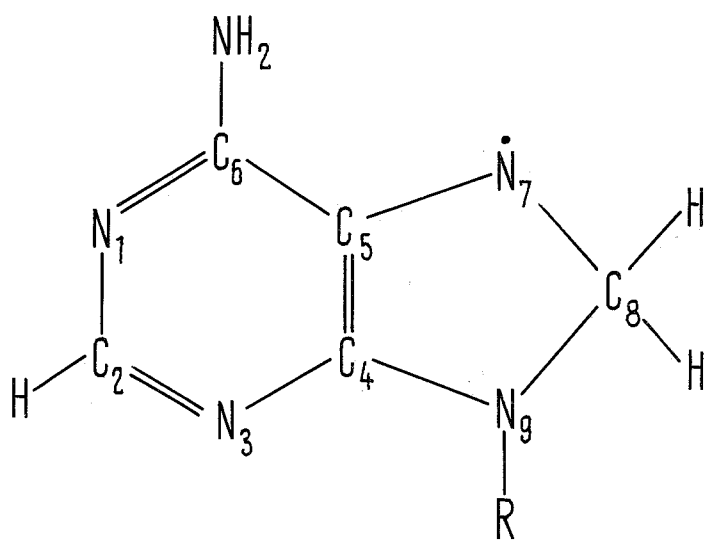
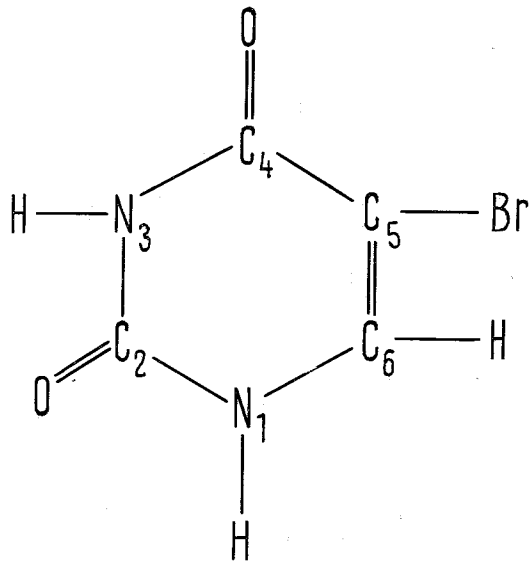
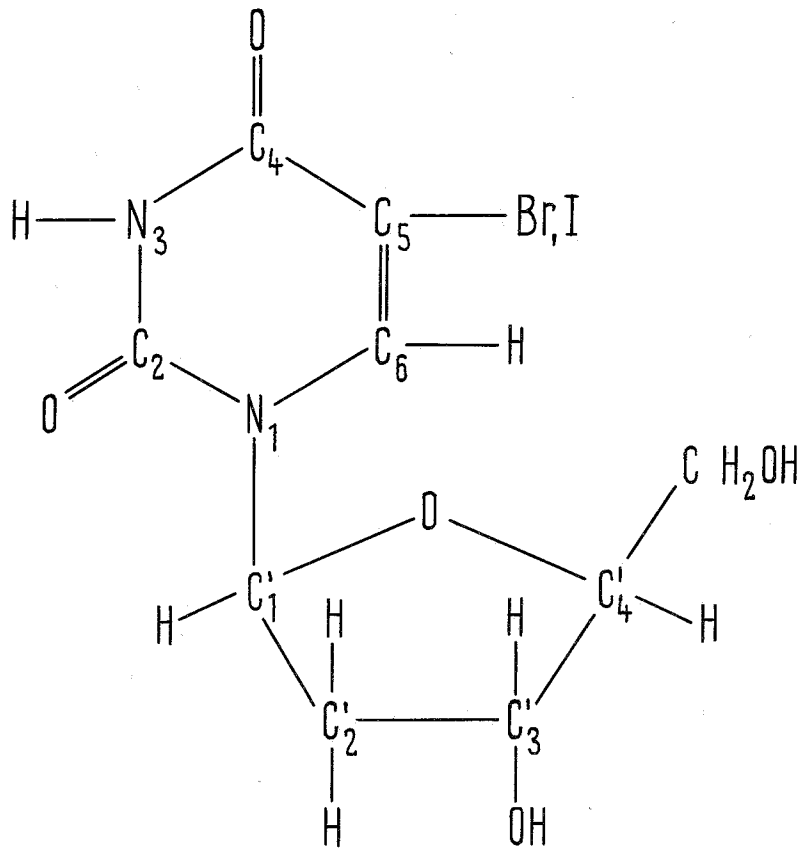


Abb. 7: Strukturformeln der 5-Halouracil-Derivate BU,
BUDR und JUDR



(BU)



(BUDR, JUDR)

Abb. 8: Äußere Form der Einkristalle von BU DR (oben links),
JU DR (oben rechts) und BU (unten) und Lage der
kristallographischen Achsen a, b, c und der ESR-
Achsen

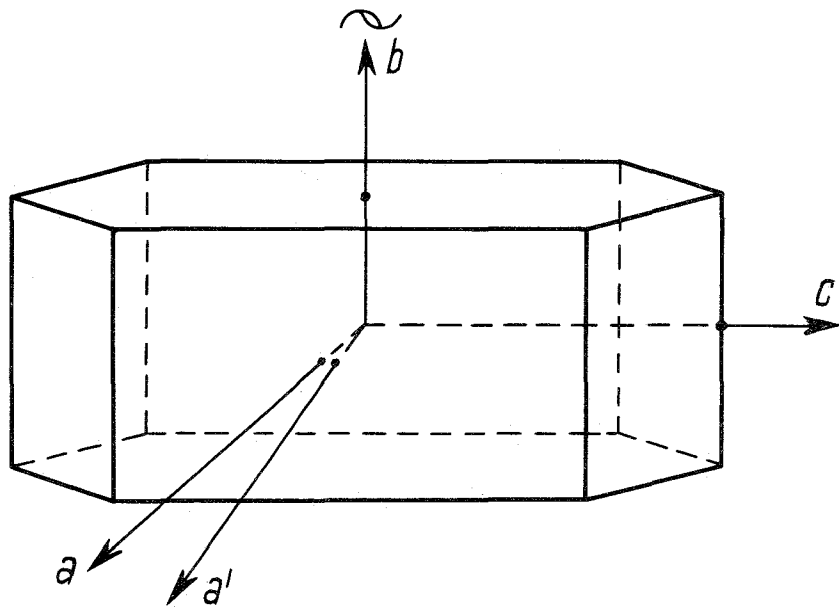
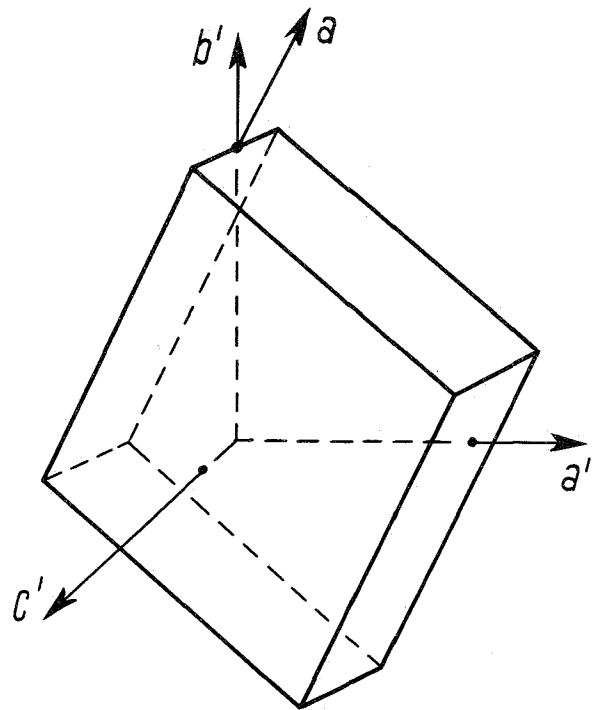
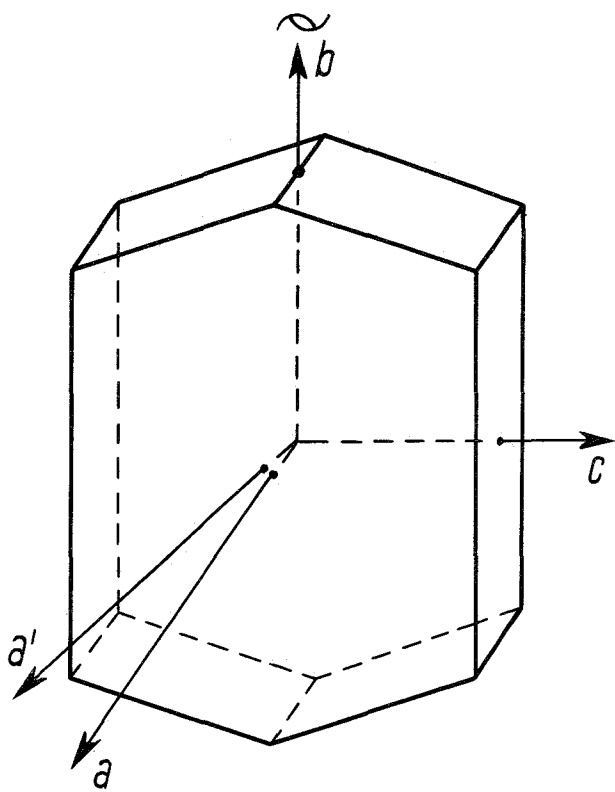


Abb. 9: ESR-Spektrum der Einkristalle von JUDR nach Bestrahlung mit 5 Mrad, Magnetfeld parallel zur C-J Bindung des Moleküls. Linien-Gruppen A (rechts) und B (links) erscheinen deutlich getrennt

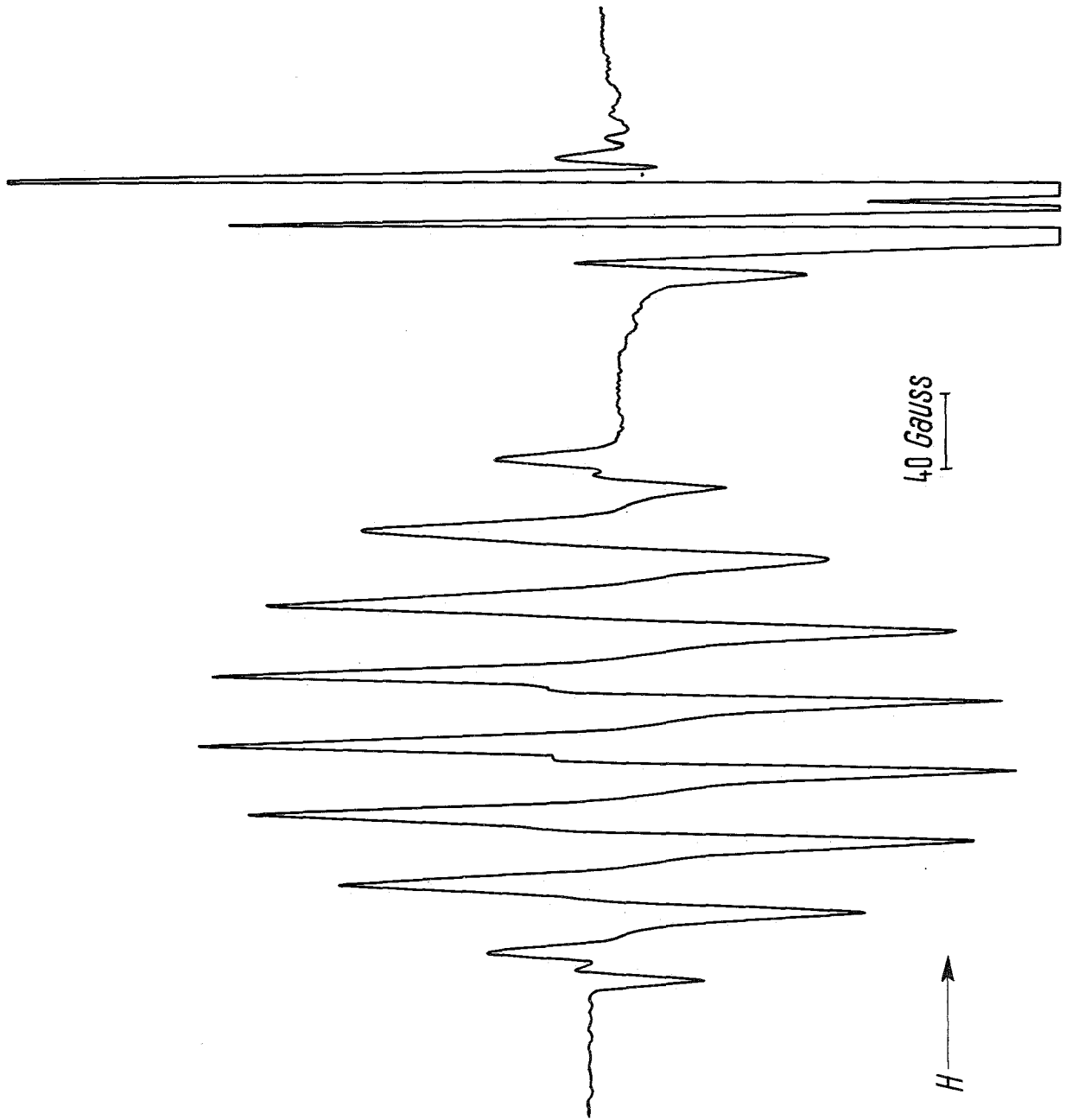


Abb. 10: Dublett-Spektren der Gruppe A in Einkristallen
(von links) von JUDR, BUDR und BU in Orientie-
rungen mit maximaler Hyperfein-Aufspaltung

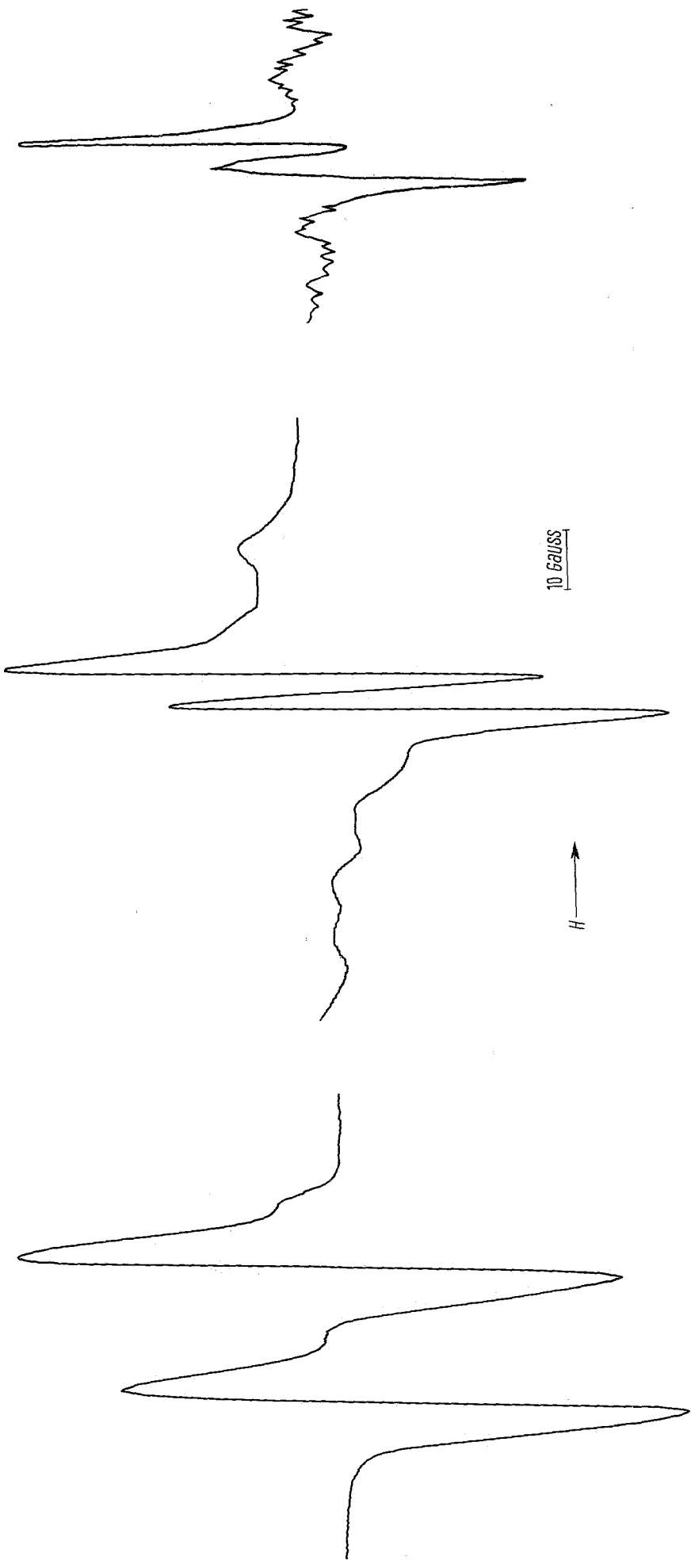


Abb. 11: Verlauf des g-Faktors und der Aufspaltung
(in Gauss) des Dubletts in JUDR in drei ortho-
gonalen Ebenen der Kristalle

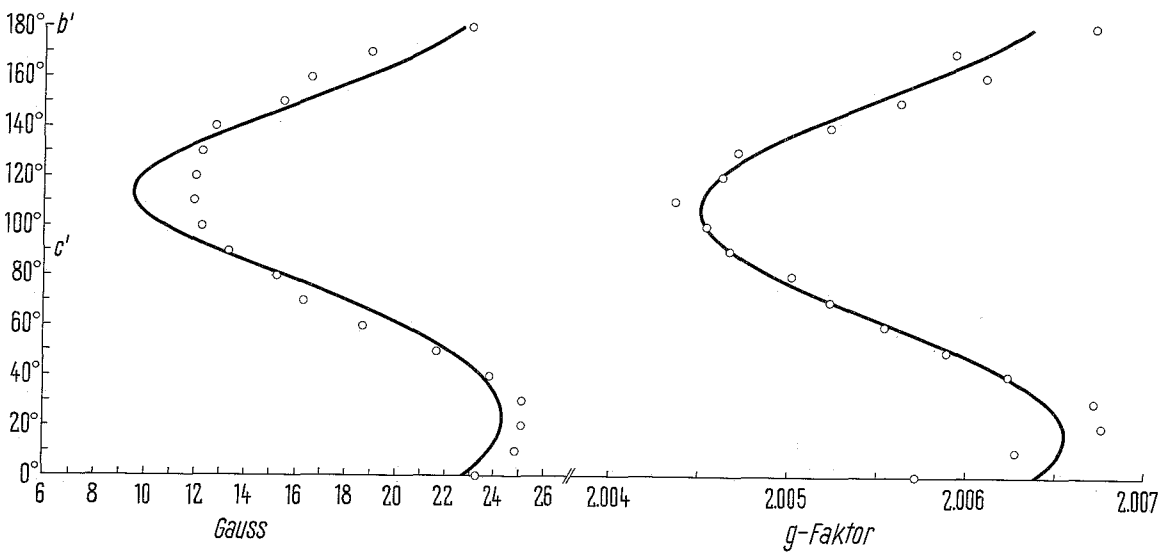
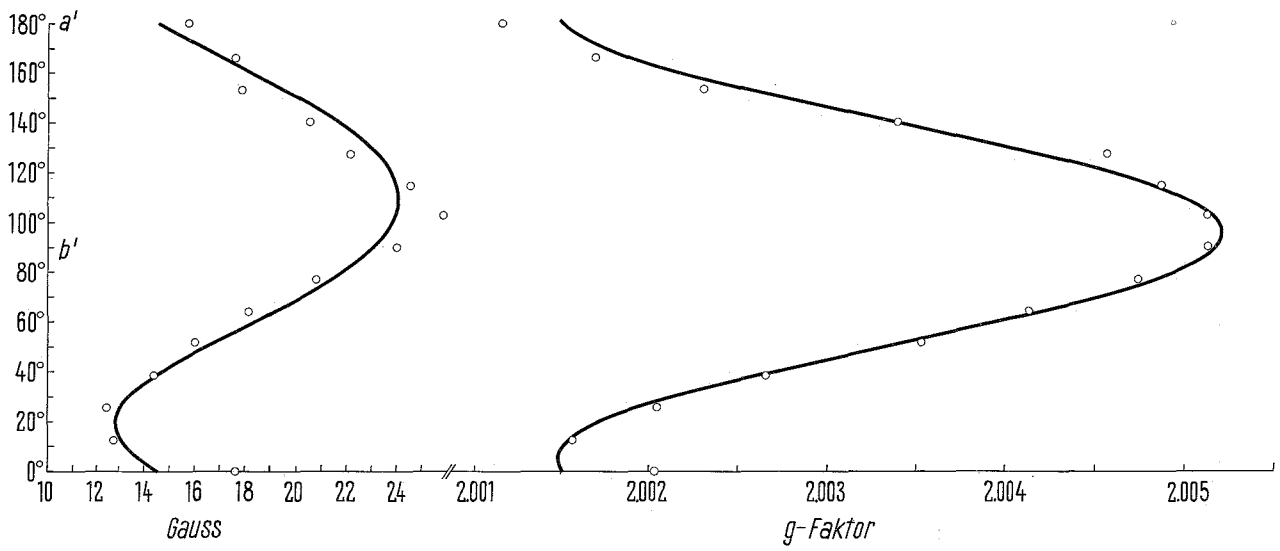
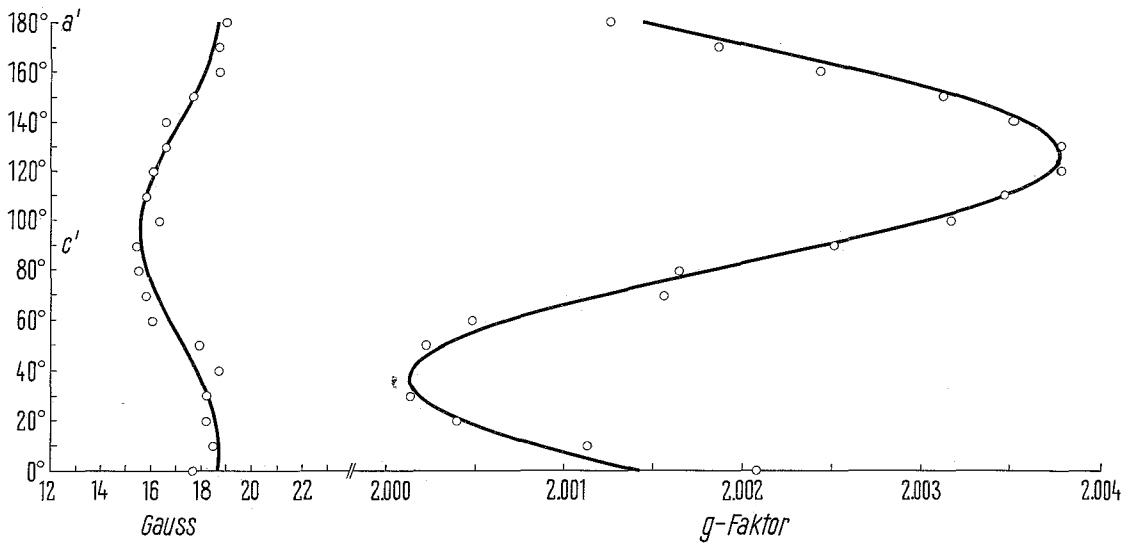


Abb. 12: ESR-Spektrum deuterierter Einkristalle von
JUDR in Orientierung mit größter Dublett-
Aufspaltung

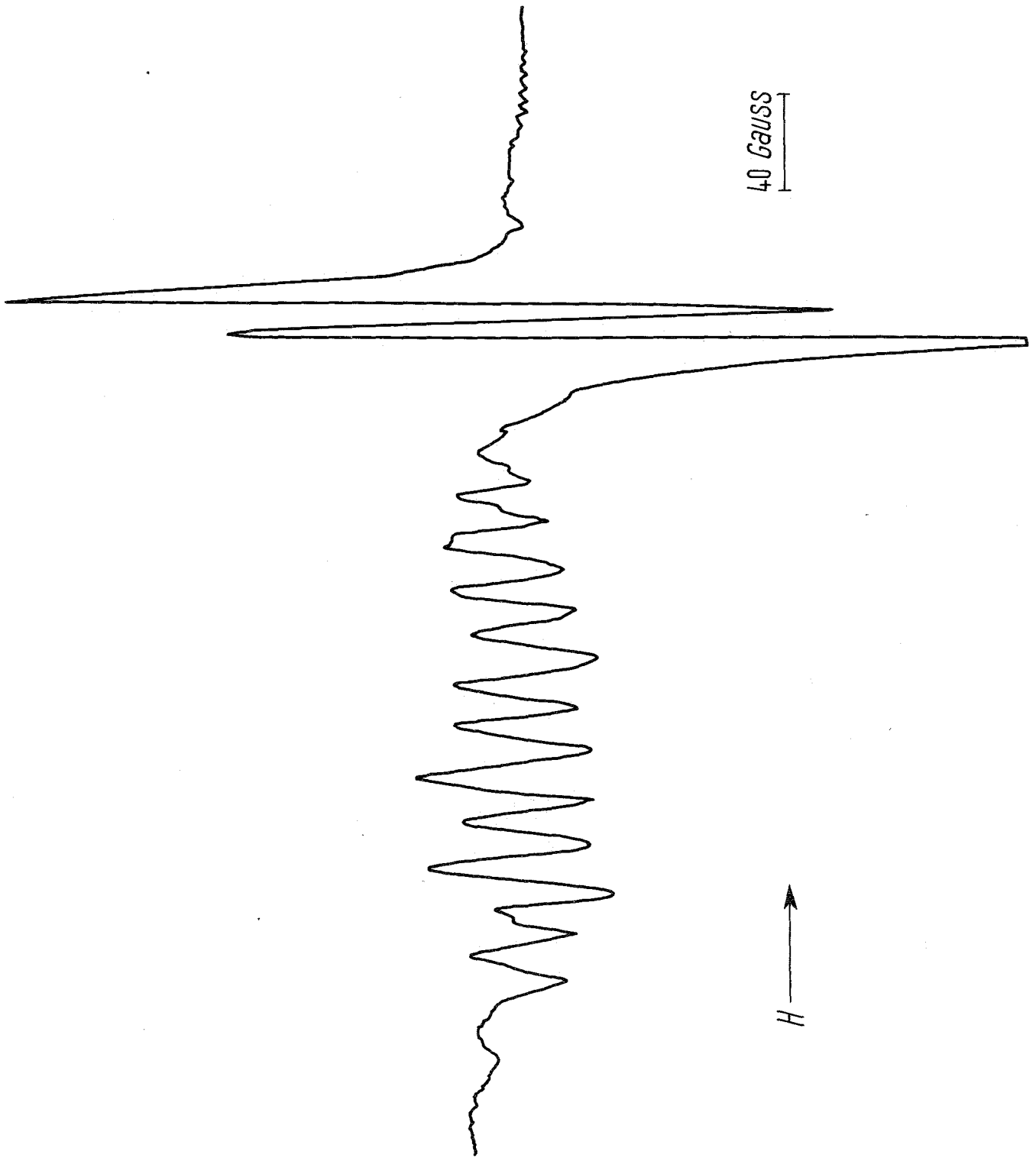


Abb. 13: Verlauf des g-Faktors und der Aufspaltung
(in Gauss) des Dubletts in BUDR in drei orthogo-
nalen Ebenen der Kristalle

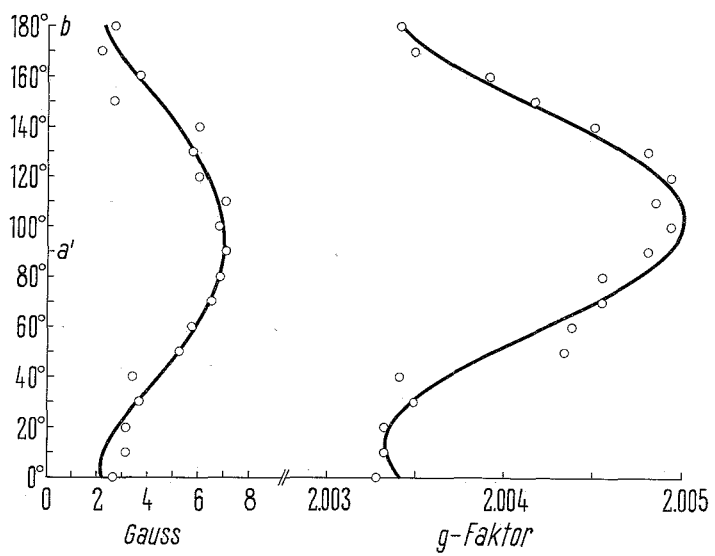
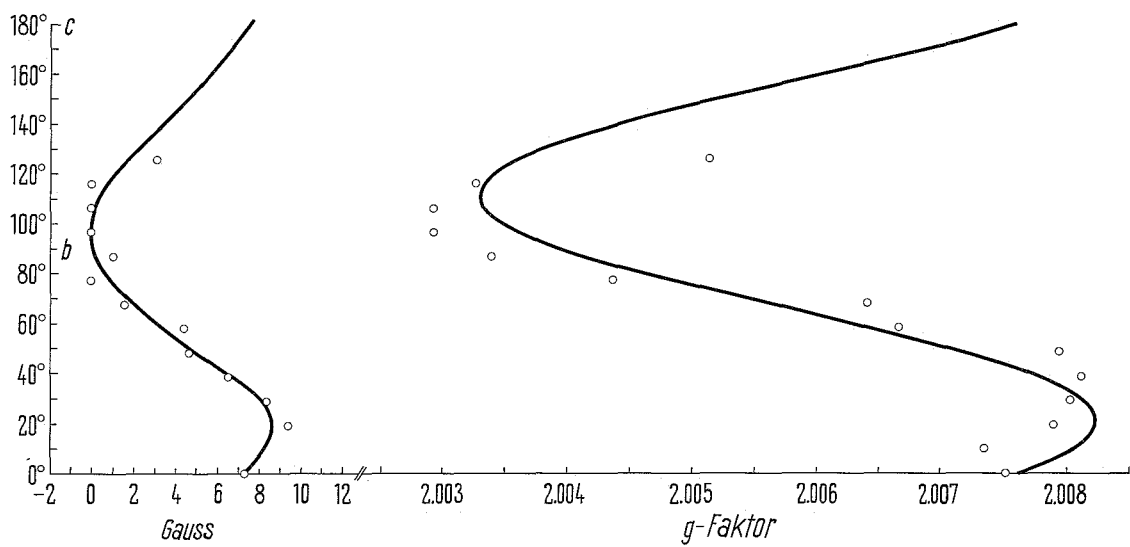
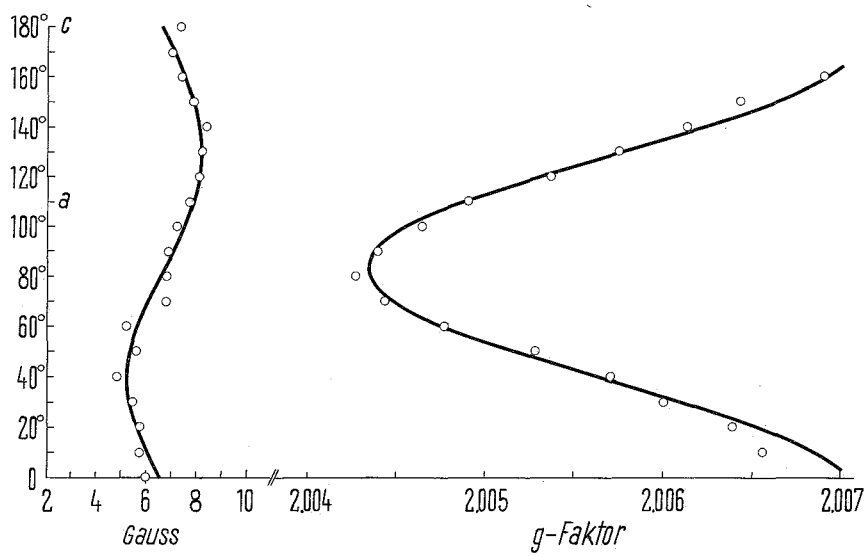


Abb. 14: ESR-Spektrum deuterierter Einkristalle von
BUDR in Orientierung mit größter Dublett-
Aufspaltung

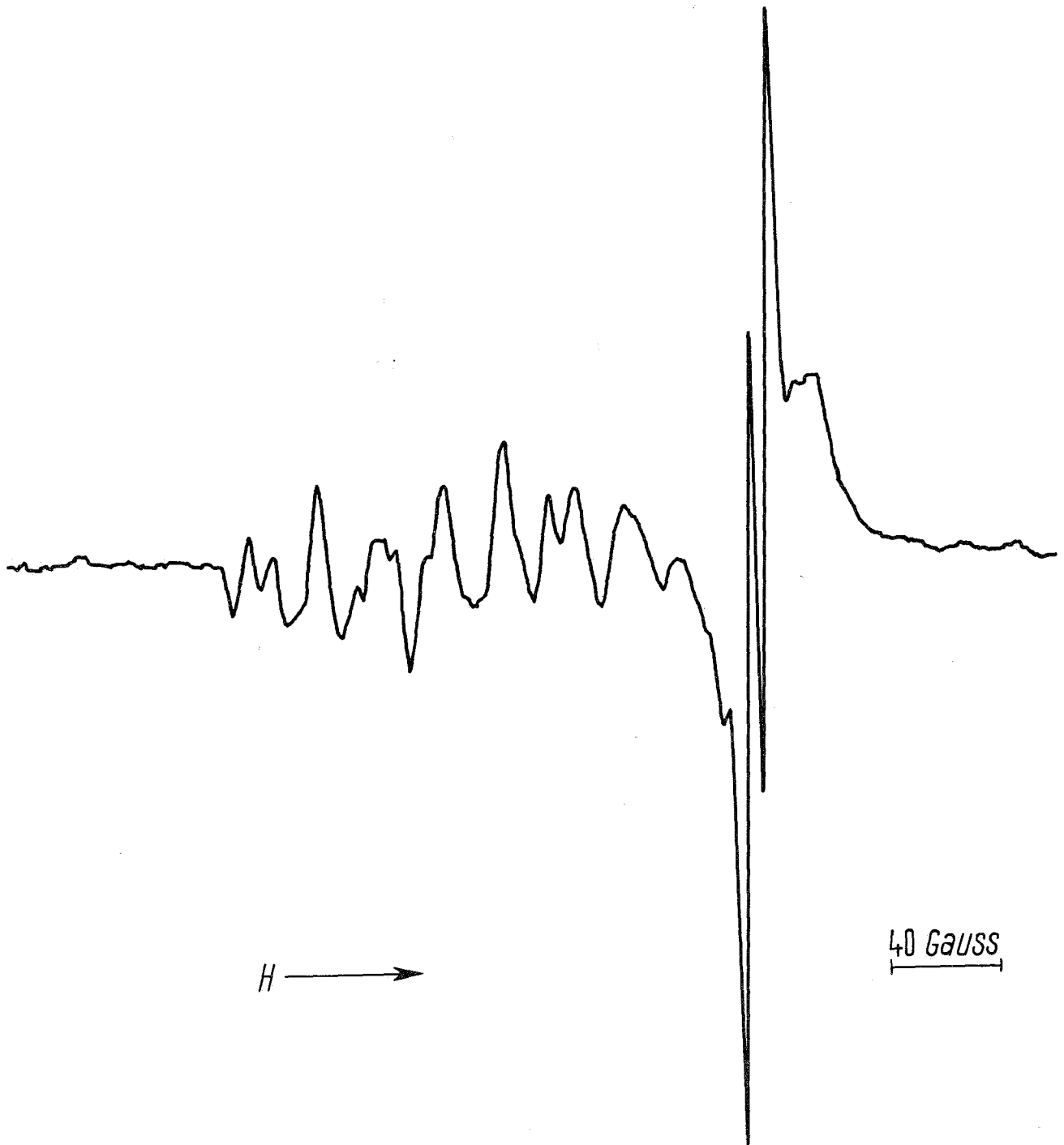
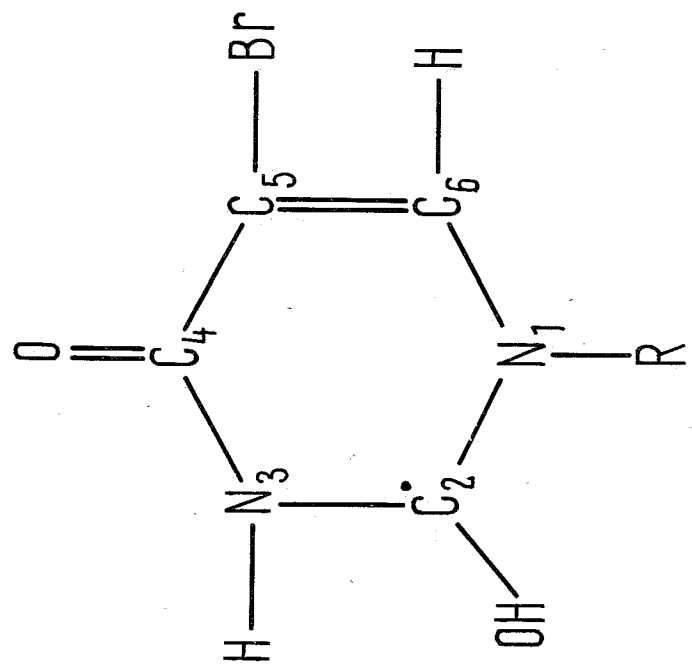
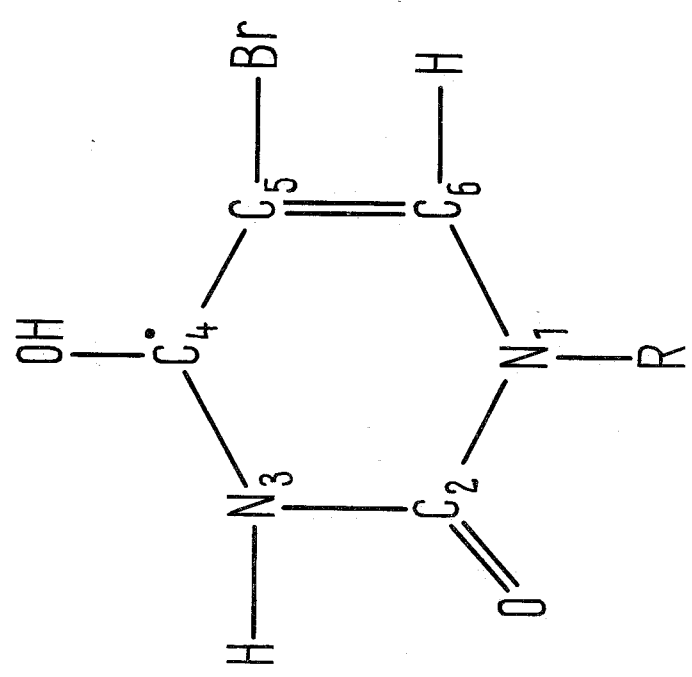


Abb. 15: Strukturformeln der möglichen C-OH Radikale
in BU und BUDR



(II)



(I)

Abb. 16: Strukturformeln der Radikale I und III der Liniengruppe A und Veranschaulichung des vom Substituenten, Br oder J, abhängigen Gleichgewichtes zwischen dem in BU und BUDR bzw. in JUDR gebildeten Radikal

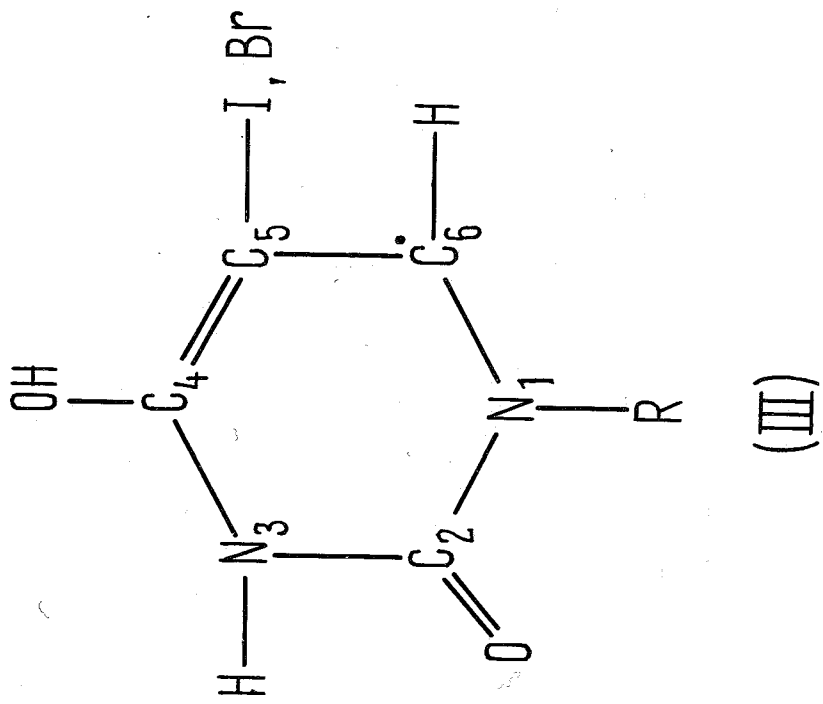
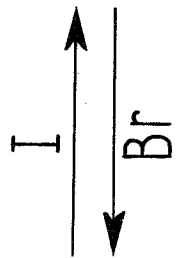
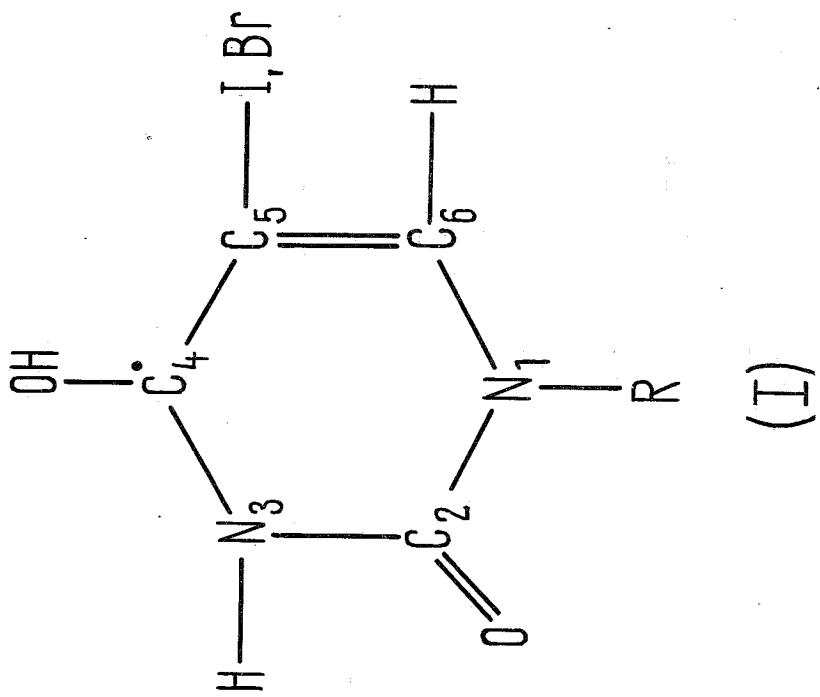


Abb. 17: Verlauf aller spektraler Linien des Einkristalls von JUDR nach Bestrahlung mit 5 Mrad in der a'b'-Ebene des Kristalls. Punkte der Linien-
gruppe B sind, soweit möglich, durch ausgezo-
gene oder gestrichelte Linien verbunden

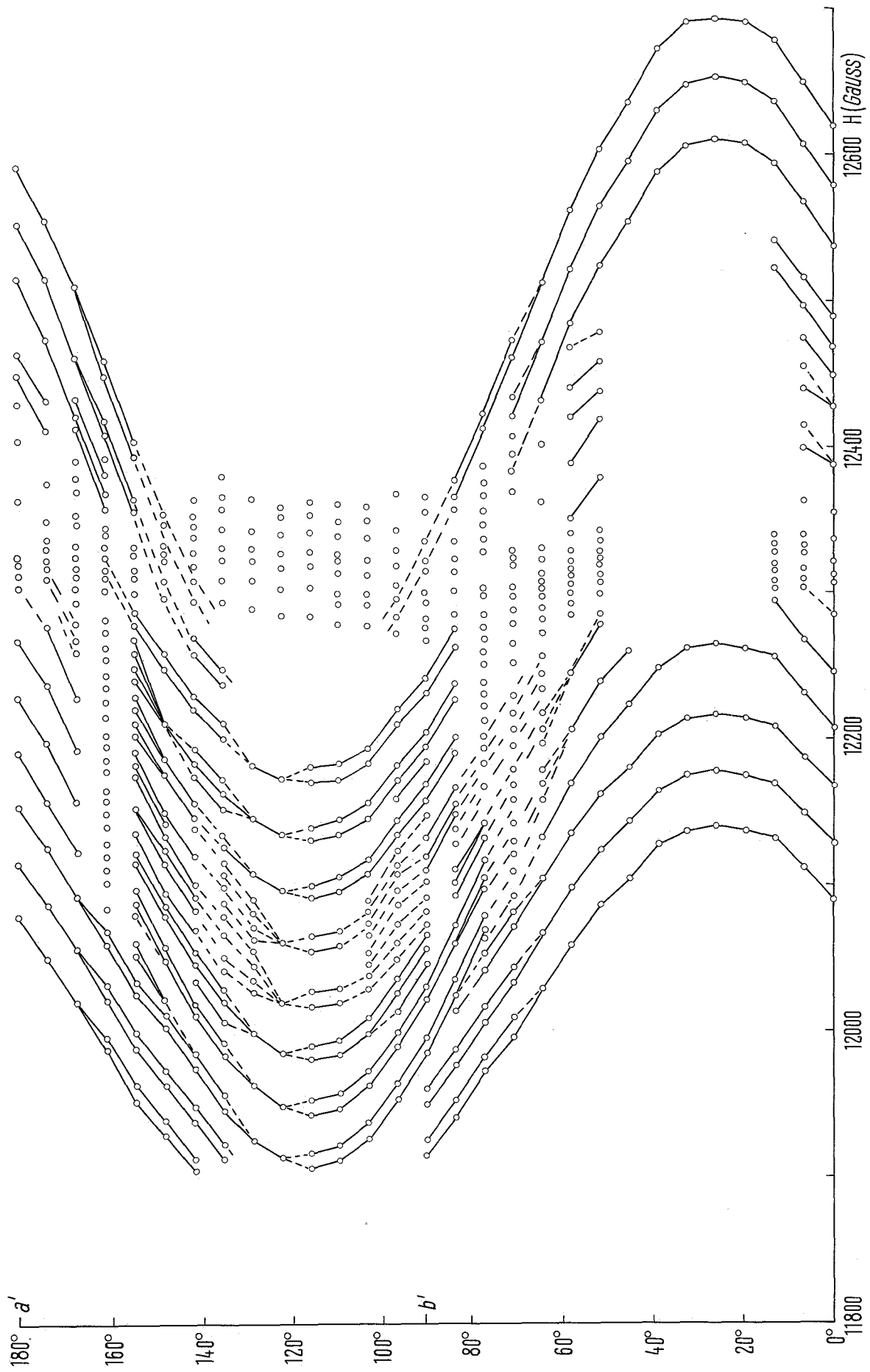
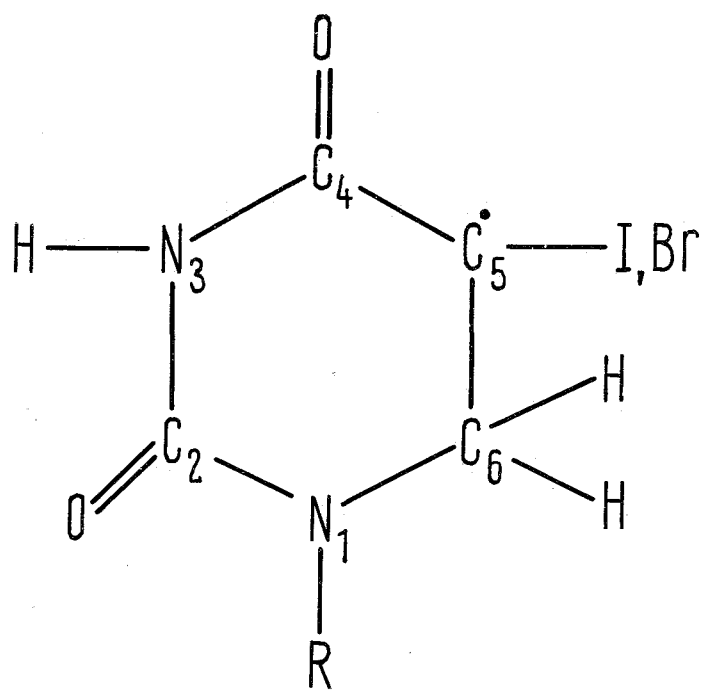


Abb. 18: Strukturformel des Radikals IV der Linien-
gruppe B BUDR und JUDR



(IV)

Abb. 19: Verlauf des g-Faktors der Liniengruppe B in
drei orthogonalen Ebenen der JUDR-Kristalle

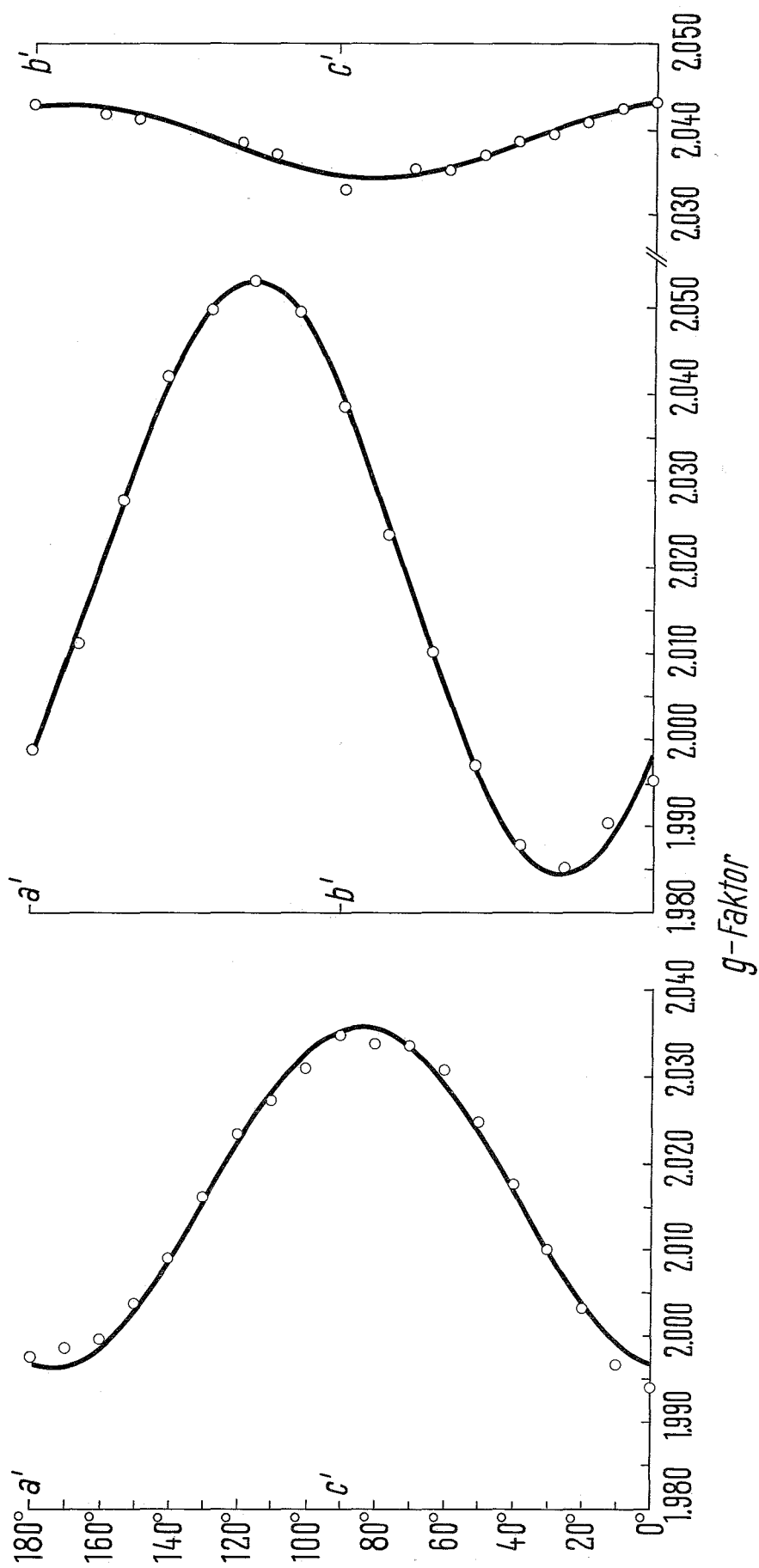


Abb. 20: ESR-Spektrum der Einkristalle von BUDR. Magnetfeld nahezu parallel zur C-Br Bindung eines Moleküls. Liniengruppe B in dieser Orientierung ist unter dem Spektrum angegeben. Linien am rechten Ende des Spektrums beruhen auf Positionsaufspaltung der Gruppe B

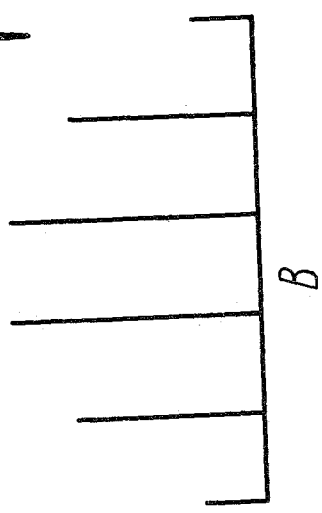
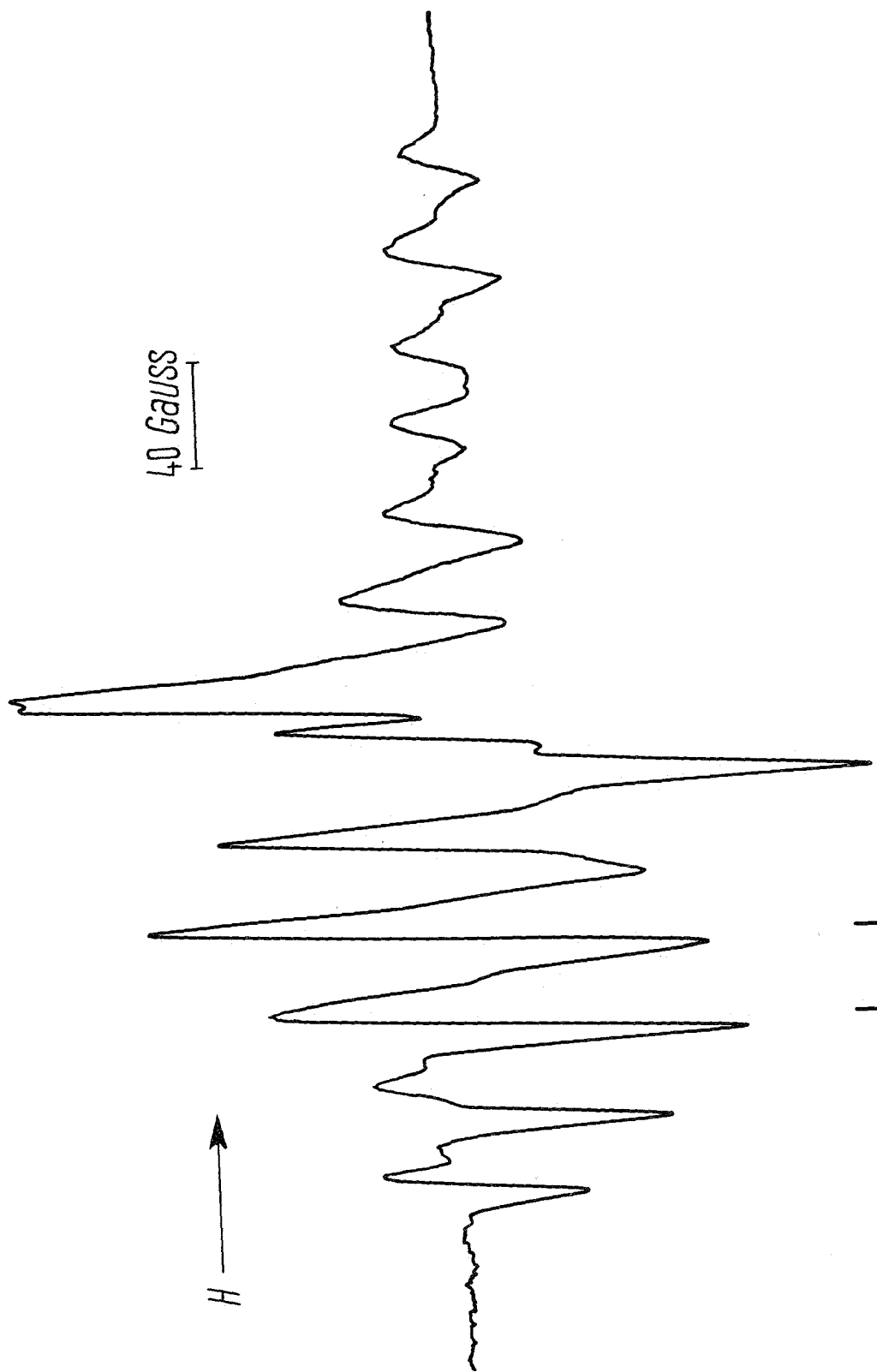
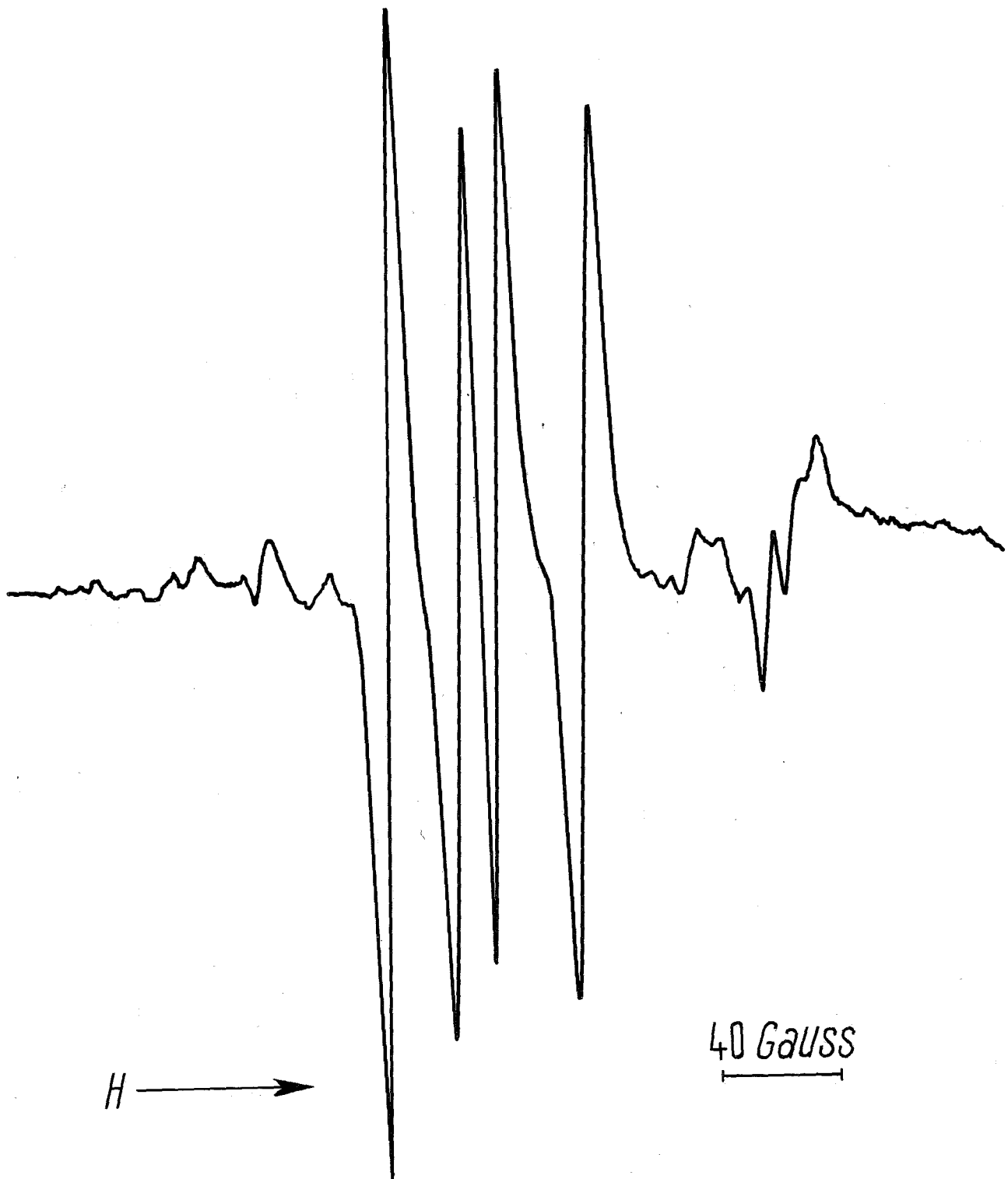


Abb. 21: ESR-Spektrum der Einkristalle von BU. Magnetfeld parallel zur b-Achse, Liniengruppen A und B in dieser Orientierung sind unter dem Spektrum aufgeführt



40 Gauss

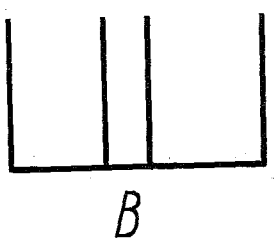
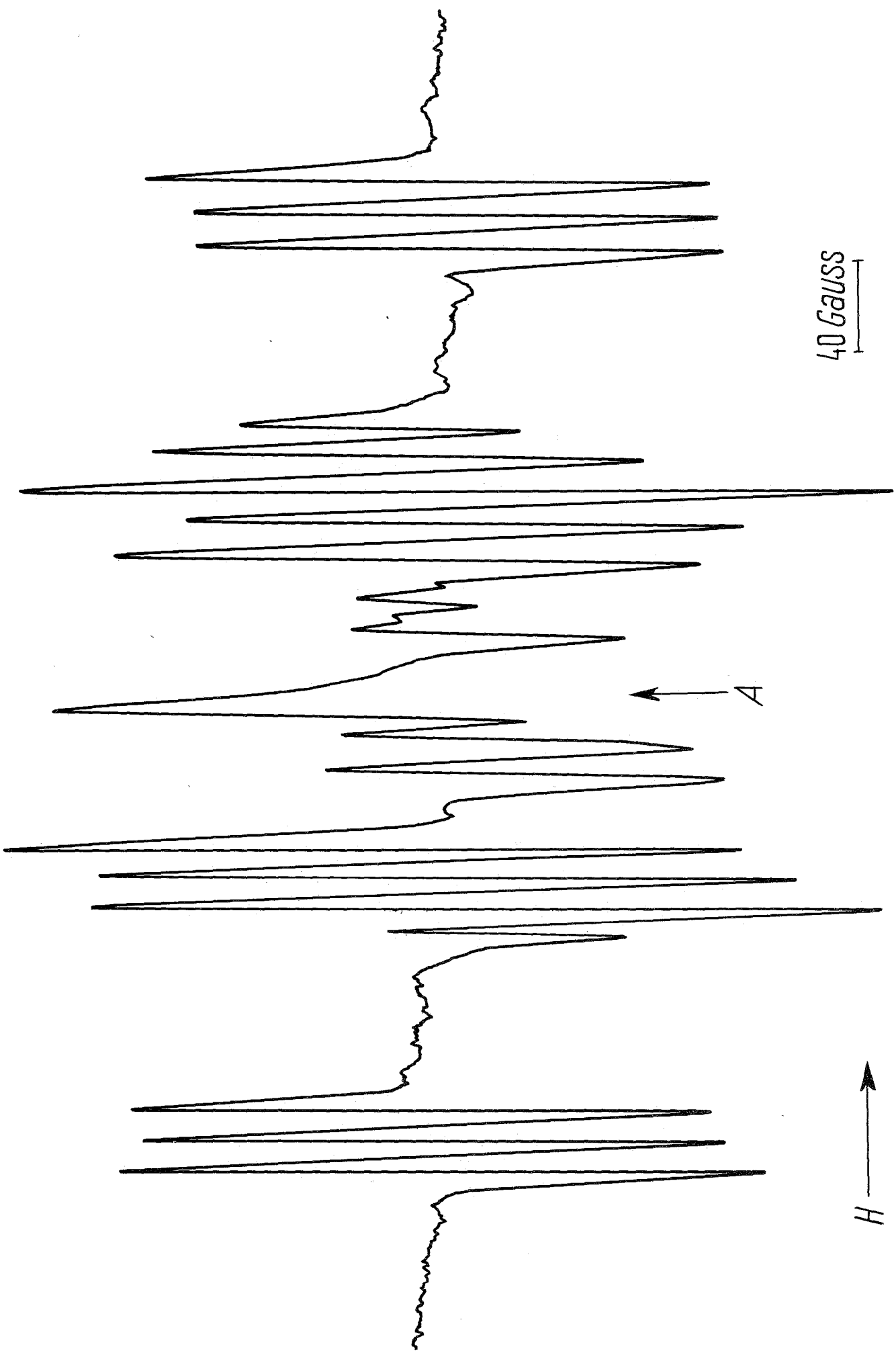


Abb. 22: ESR-Spektrum der Einkristalle von BU. Magnetfeld parallel zur a-Achse. Liniengruppe B besteht aus vier Gruppen von Linien, wobei die beiden äußeren in ein Triplet aufgespalten sind

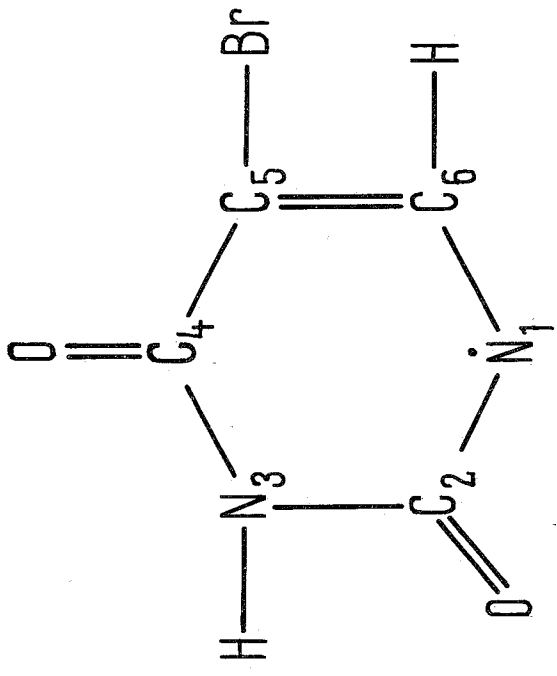
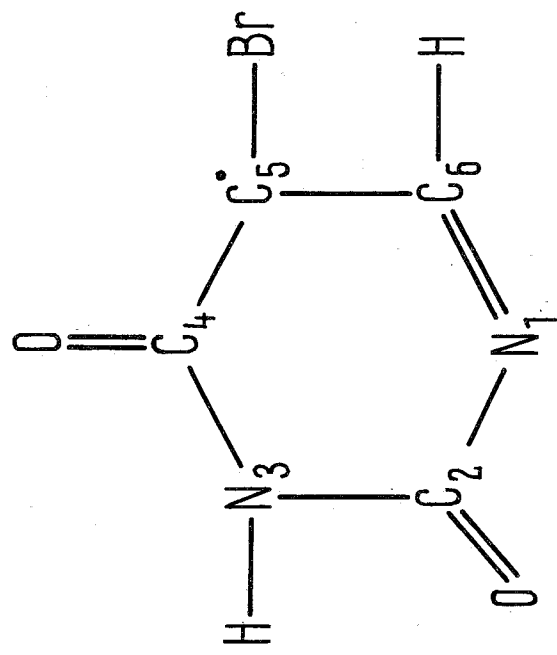


40 Gauss

A

H

Abb. 23: Strukturformeln und Resonanzstruktur-Gleichgewicht des Radikals V der Liniengruppe B in Einkristallen von BU



(V)

- Abb. 24: a) Strukturformel von β -2-Desoxy-D-Ribose
(Pyranose Form) und molekulare Struktur
im Einkristall nach Furberg (1960)
- b) Äußere Form der Einkristalle von Desoxy-
ribose mit der Lage der kristallogra-
phischen und der ESR-Achsen a', b', c

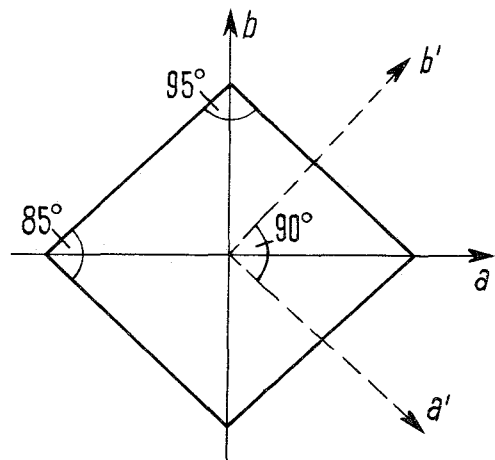
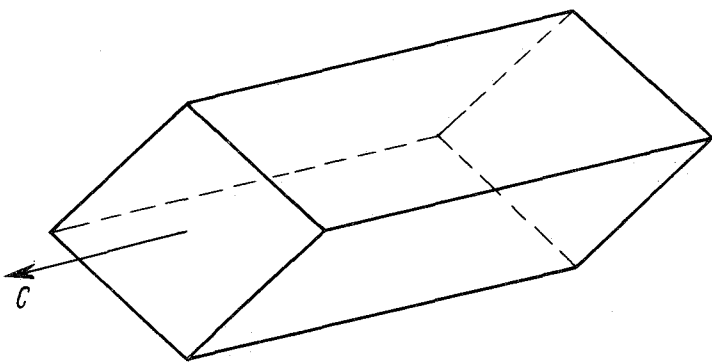
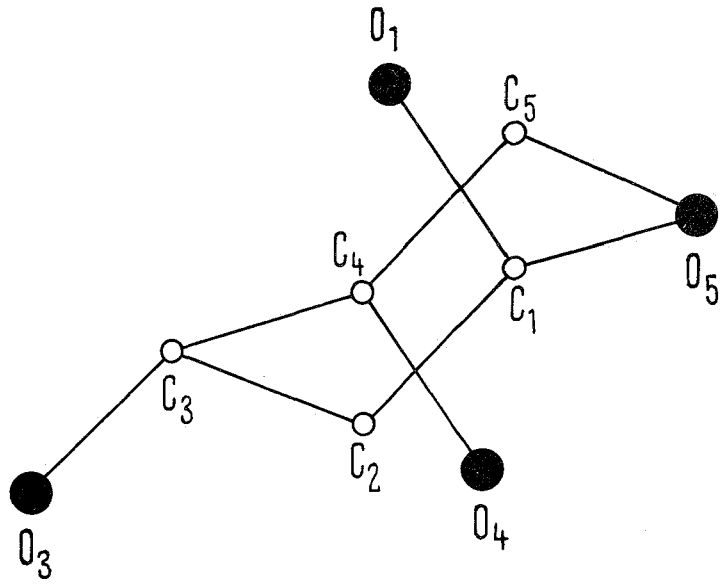
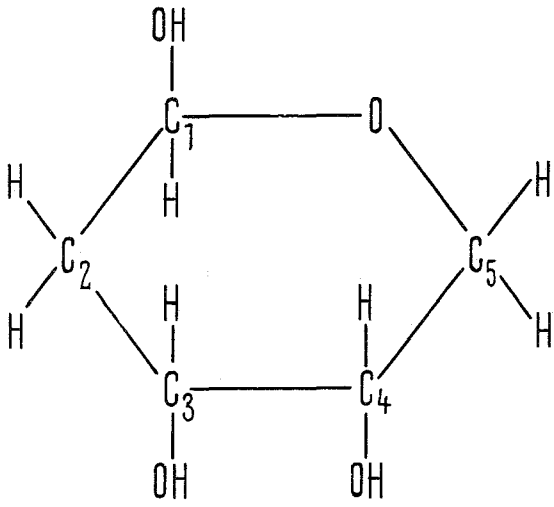


Abb. 25: ESR-Spektrum der Einkristalle von Desoxyribose bei 35 GHz. Magnetfeld parallel zur ab-Ebene. Position und Amplitude der fünf Haupt-Linien sind unter dem Spektrum angegeben. Dosis beträgt 0,4 Mrad

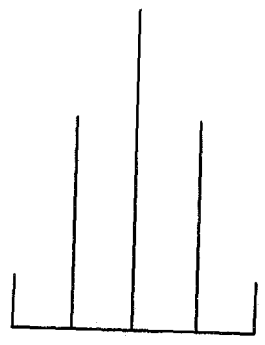
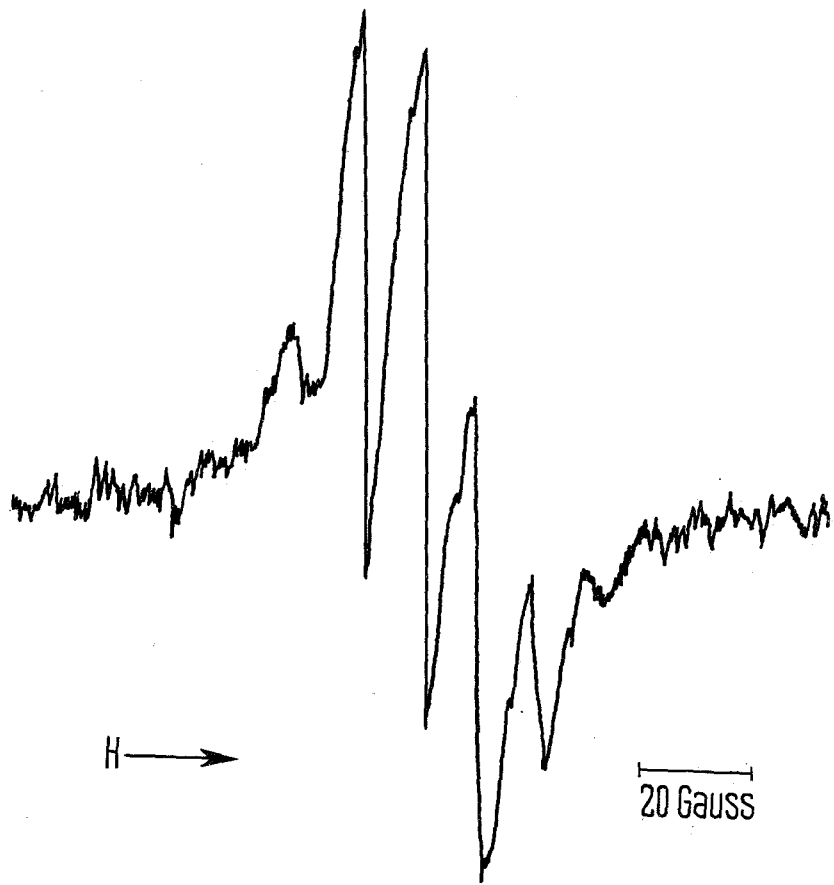
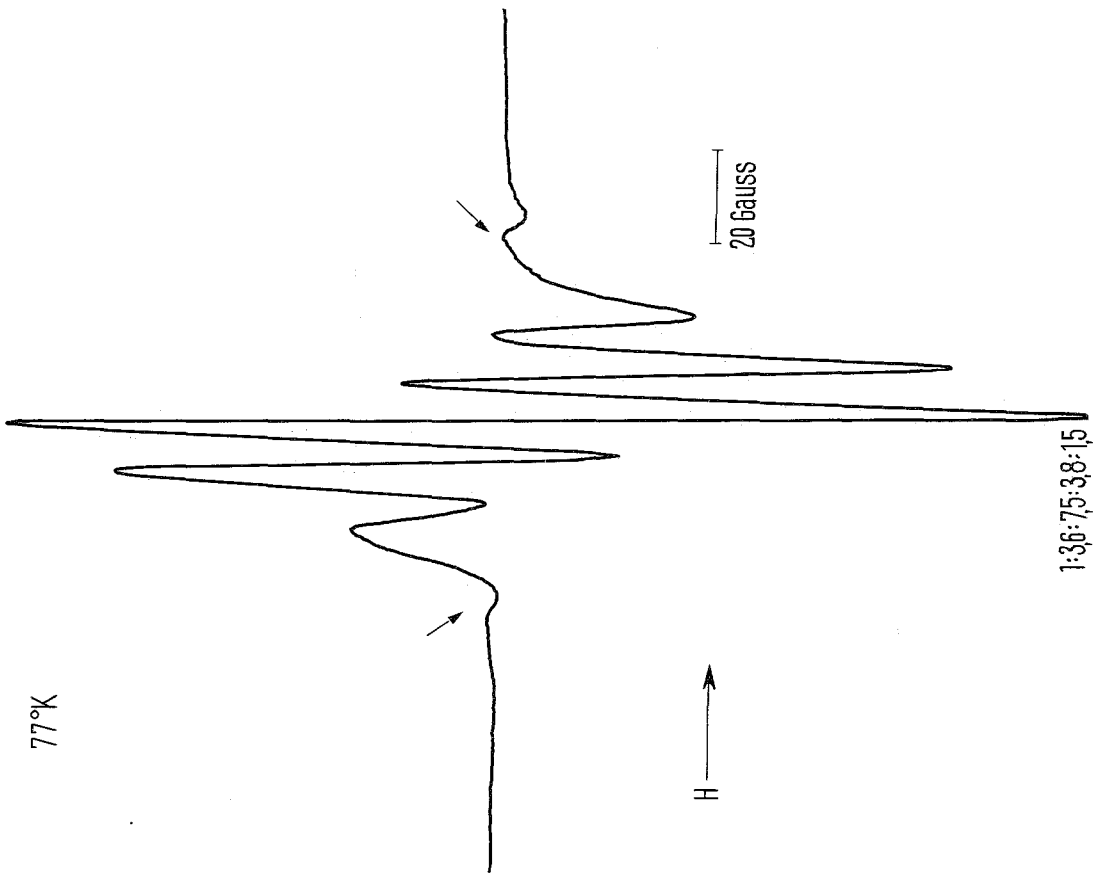


Abb. 26: ESR-Spektrum von polykristalliner Desoxyribose bei 9,3 GHz nach Bestrahlung mit 1,2 Mrad bei a) 77 °K und b) 300 °K. Messungen bei 300 °K. Unter dem Spektrum sind die Intensitäten der fünf Hauptlinien angegeben. Satelliten-Linien sind durch Pfeile markiert.

77°K



300°K

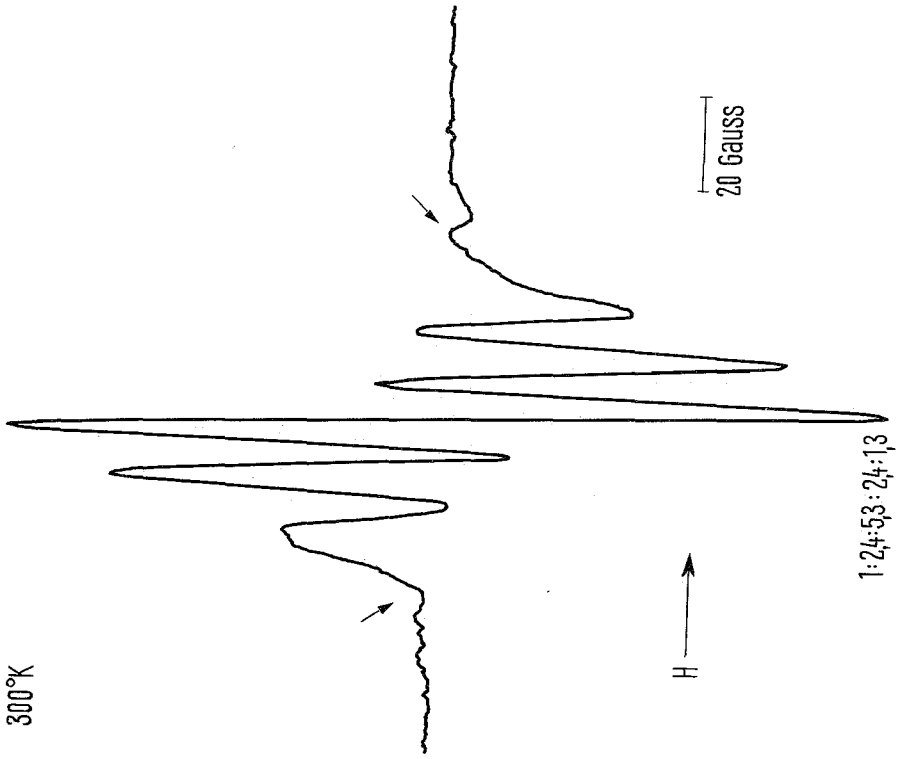


Abb. 27: ESR-Spektrum der Proben von Abb. 26a oder b nach Hitze-Behandlung (40 min bei 60 °C). Intensitäten der Hauptlinien sind unter dem Spektrum angegeben. Meßtemperatur 300 °K. Mikrowellenfrequenz 9,3 GHz

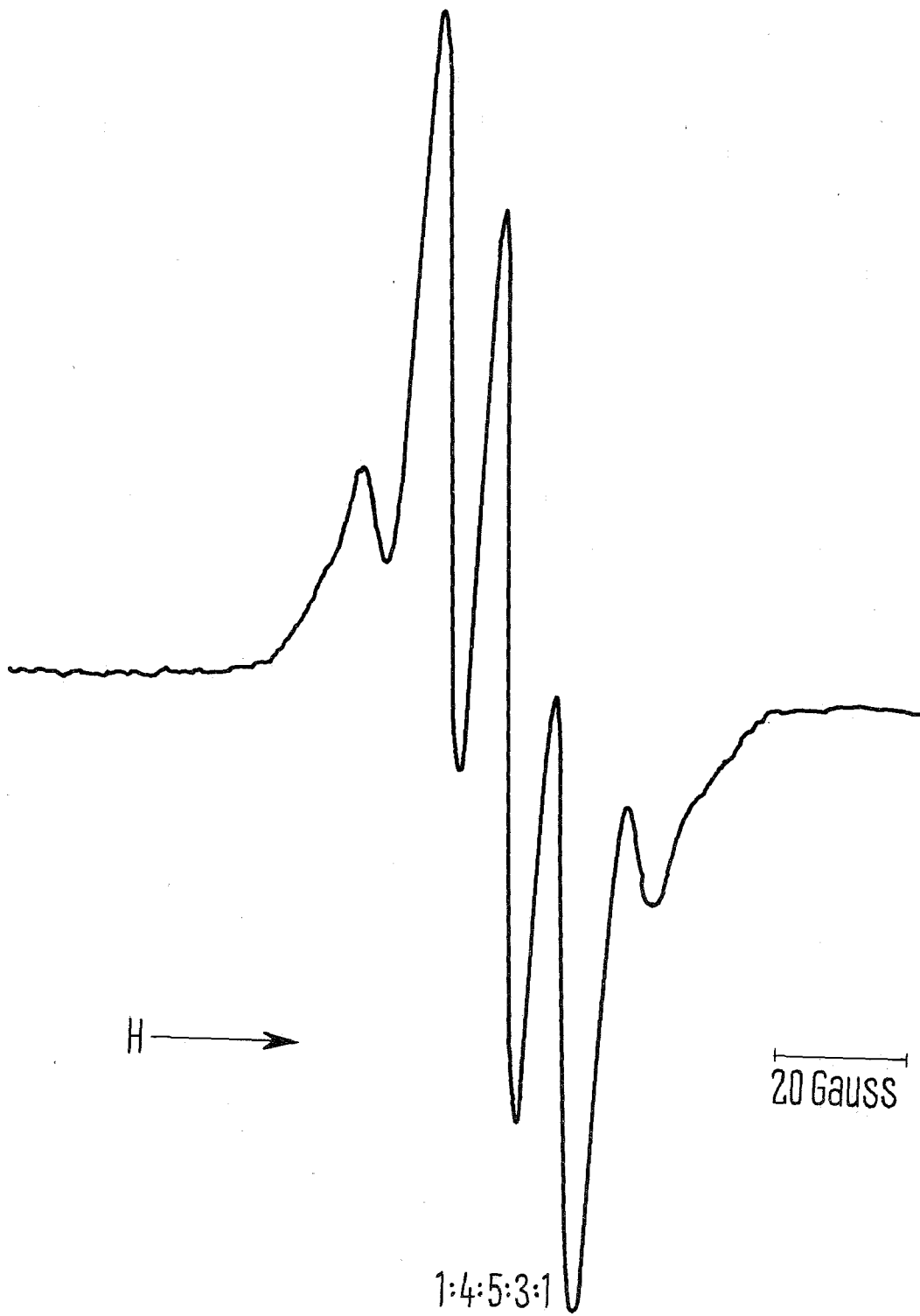
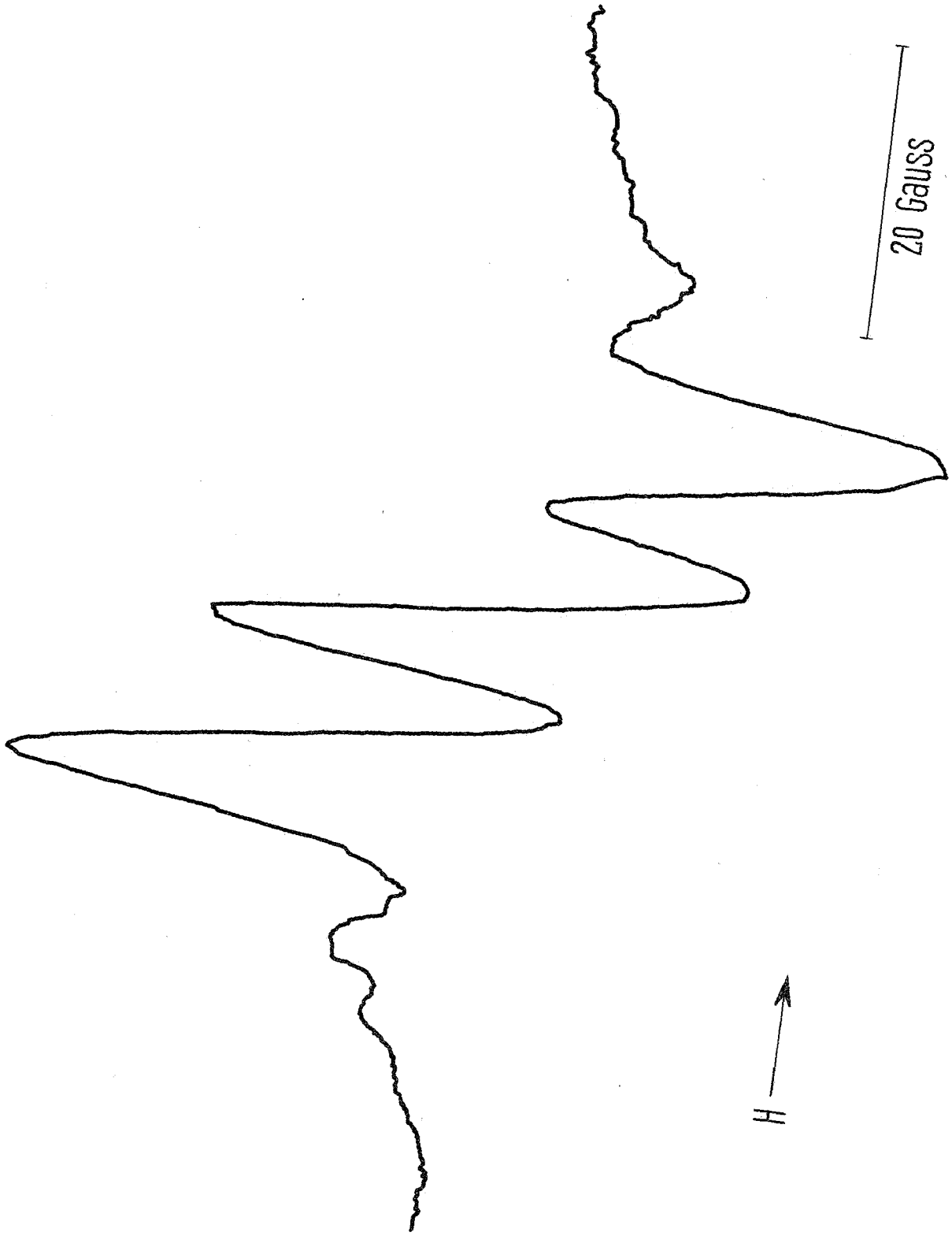
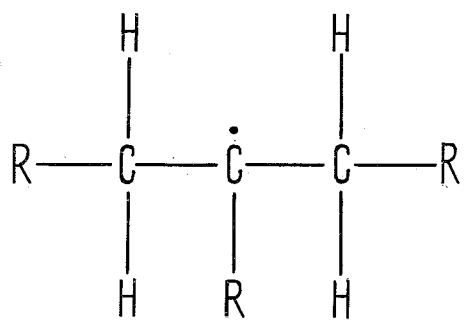


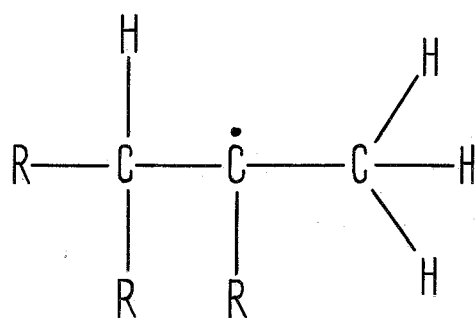
Abb. 28: ESR-Spektrum der Proben von Abb. 26a oder b nach weiterem Ausheizen bei 60 °C. Meßtemperatur 300 °K. Mikrowellenfrequenz 9,3 GHz



- Abb. 29: a) Mögliche Schemata des Radikals der fünf Hauptlinien in Desoxyribose
- b) Strukturformel des Radikals des Quintett-Spektrums in Desoxyribose



(A)



(B)

