

ESR-NACHWEIS DER ADDITION VON ALKOHOLRADIKALEN AN 4- β -HYDROXYATHYL-
5-METHYLTHIAZOL

Werner Damerau, Dieter Schwarz, Günter Lassmann

Bereich Methodik und Theorie, Zentralinstitut für Molekular-
biologie, Akademie der Wissenschaften der DDR, Berlin-Buch
und

Gerhard Hubner und Alfred Schellenberger

Sektion Biowissenschaften der Martin-Luther-Universität,
Fachbereich Biochemie, Chemische Abteilung, Halle

(Received in Germany 12 March 1973; received in UK for publication 19 March 1973)

Der ESR-spektroskopische Nachweis der Addition von OH \cdot -, NH $_2$ \cdot -, SH- und SO $_3$ \cdot^- -
Radikalen an Doppelbindungen in Alkenderivaten (1,2), Aromaten (3) oder in
heterocyclischen Verbindungen (4) ist Gegenstand mehrerer Arbeiten gewesen
(vgl. auch (5)). Über die Addition von Alkoholradikalen ist dagegen wenig
bekannt. An dieser Stelle soll über die Addition der Radikale CH $_3$ \dot{C} HOH,
 \dot{C} H $_2$ OH und (CH $_3$) $_2$ \dot{C} OH an 4- β -Hydroxyethyl-5-methylthiazol (I), einem Spalt-
produkt des Thiamins, berichtet werden.

Das nach (6) mittels Ti $^{3+}$ /H $_2$ O $_2$ aus Athanol erzeugte Radikal CH $_3$ \dot{C} HOH
liefert ein charakteristisches ESR-Spektrum (Dublett mit einer Quartett-
Aufspaltung), das bei Zusatz von $1 \cdot 10^{-3}$ M I jedoch verschwindet. In Gegen-
wart von $\geq 5 \cdot 10^{-3}$ M I wird ein ESR-Spektrum beobachtet (Abb. 1a), das von
einem kurzlebigen Radikal (II) stammt, das durch den Einfang von CH $_3$ \dot{C} HOH
durch I entstanden ist (I + $\dot{O}H$ liefert selbst bei 0,5 M I ein nur wenig
intensives Spektrum). Die durch Simulation bestimmten Kopplungskonstanten
haben folgende Werte: $a_N = (5,5 \pm 0,1)$ G, $a_{H(c)} = (27,7 \pm 0,2)$ G,
 $2 \times a_{H(e)} = (8,7 \pm 0,1)$ G, $a_{H(a)} = (6,2 \pm 0,1)$ G, $3 \times a_{H(d)} = (2,40 \pm 0,05)$
G und $a_{H(b)} = (0,70 \pm 0,05)$ G. Zusammen mit $g = 2,0060$ verweisen diese

Aufspaltungen auf die Radikalstruktur $\text{IIa} \longleftrightarrow \text{IIb}$ und damit die Addition von CH_3CHOH an die C-2-Position von I:

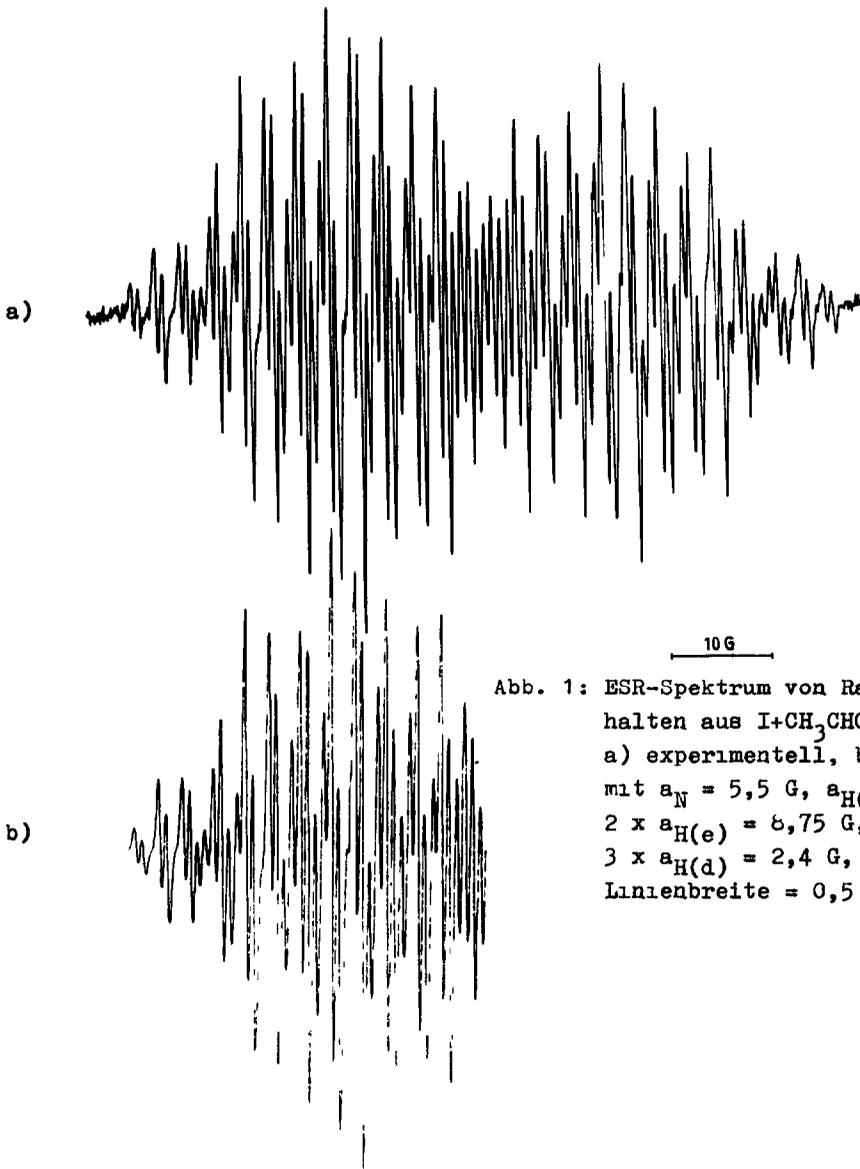
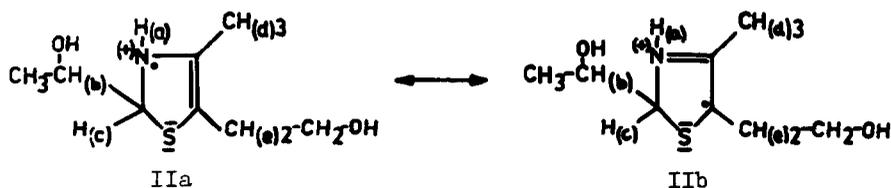


Abb. 1: ESR-Spektrum von Radikal II, erhalten aus $\text{I} + \text{CH}_3\text{CHOH}$ in H_2O ;
 a) experimentell, b) Simuliert
 mit $a_{\text{N}} = 5,5 \text{ G}$, $a_{\text{H}(\text{c})} = 27,7 \text{ G}$,
 $2 \times a_{\text{H}(\text{e})} = 6,75 \text{ G}$, $a_{\text{H}(\text{a})} = 6,2 \text{ G}$,
 $3 \times a_{\text{H}(\text{d})} = 2,4 \text{ G}$, $a_{\text{H}(\text{b})} = 0,72 \text{ G}$,
 Linienbreite = $0,5 \text{ G}$, Gaußform.



Die Zuordnung von $a_H = 0,70$ G zu einem Proton ($H_{(b)}$) des addierten CH_3CHOH wird durch den Vergleich mit der Reaktion der Radikale $\dot{C}H_2OH$ und $(CH_3)_2\dot{C}OH$ unterstützt. Die ESR-Spektren der durch Addition von $\dot{C}H_2OH$ bzw. $(CH_3)_2\dot{C}OH$ an I erhaltenen Radikale weisen mit einer Ausnahme die gleichen Hfs-Parameter wie II auf, lediglich die Dublett-Aufspaltung $a_H = 0,70$ G fehlt. Für die Addition von $(CH_3)_2\dot{C}OH$ ist das zu erwarten, während bei Addition von CH_2OH statt des Dubletts ein 1:2:1-Triplett auftreten müßte, das jedoch nicht mehr auflösbar ist.

Die Zuordnung von $a_H = 6,2$ G zum NH-Proton wurde durch Aufnahme des ESR-Spektrums in D_2O sichergestellt (Abb. 2a). Wegen des um den Faktor 6,52 geringeren gyromagnetischen Verhältnisses von 2D gegenüber 1H ist $a_D = 0,95$ G zu erwarten. Hinreichende Übereinstimmung von experimentellem (Abb. 2a) und computersimuliertem Spektrum (Abb. 2b) wurde durch Ersetzen von $a_{H(a)} = 6,2$ G ($I = \frac{1}{2}$) durch $a_D = (0,95 \pm 0,05)$ G ($I = 1$) erreicht.

Die Addition von CH_3CHOH an Thiamin selbst erfolgt nicht am Thiazolteil, sondern an der C-6'-Position des Pyrimidinteils (Damerou et al., unveröffentlicht), was auf eine sterische Blockade der C-2-Position des Thiazolringes durch den Pyrimidinteil zurückgeführt werden kann.

Experimentelles

Radikal II wurde durch Mischen einer Lösung von 1 ml 15 %ig. $TiCl_3$ + 10 ml Äthanol + $10^{-4} - 2 \cdot 10^{-2}$ Mol I/100 ml H_2O oder D_2O (pH 1) mit einer Lösung von 1 ml 30 %ig. H_2O_2 + 10 ml Äthanol + $10^{-4} - 2 \cdot 10^{-2}$ Mol I/100 ml H_2O oder D_2O (pH 1) in einem Durchflusssystem erhalten. Die ESR-Messungen erfolgten an einem VARIAN-E3-Spektrometer unter Verwendung einer von uns neuent-

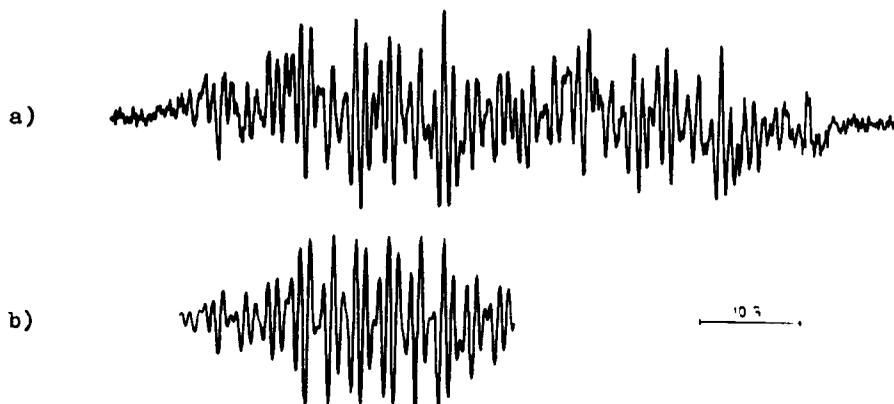


Abb. 2: ESR-Spektrum von Radikal II in $\sim 90\%$ D_2O , a) experimentell, b) simuliert mit $a_N = 5,5$ G, $a_{H(c)} = 27,9$ G, $2 \times a_{H(e)} = 6,75$ G, $a_D = 0,99$ G, $3 \times a_{H(d)} = 2,40$ G, $a_{H(b)} = 0,72$ G, Linienbreite = $0,5$ G, Gaußform.

wickelten Mischkammer (Substanzeinsatz um den Faktor 10 geringer). Die Spektrensimulation wurde mit einem von uns aufgestellten ALGOL-Programm (ESR 2) durchgeführt.

Literatur

1. C. Corvaja, H. Fischer und G. Giacometti, Z. phys. Chem. N.F. 45, 1 (1965)
2. R.O.C. Norman und P.M. Storey, J. chem. Soc. B, 1009 (1971)
3. W.T. Dixon und R.O.C. Norman, J. chem. Soc. 1964, 4857
4. Cl. Nicolau, M. McMillan und R.O.C. Norman, Biochim. Biophys. Acta 174, 413 (1969)
5. R.O.C. Norman, in "Essays on free-radical chemistry", Chem. Soc. Special Publ. 24, Ch. 6 (1970)
6. W.T. Dixon und R.O.C. Norman, J. chem. Soc. 1963, 3119