

Reaktionen in Nitroimidazol, ausgelöst durch niederenergetische (0–2 eV) Elektronen: Methylierung an N1-H blockiert die Reaktivität**

Katrin Tanzer, Linda Feketeová,* Benjamin Puschnigg, Paul Scheier, Eugen Illenberger und Stephan Denifl*

Abstract: Niederenergetische Elektronen (NEEs) mit Energien unter 2 eV zersetzen 4-Nitroimidazol (4NI) sehr effizient über dissoziative Elektronenanzalagerung (DEA). Diese Reaktionen umfassen einfache Bindungsbrüche, aber auch komplexe Prozesse wie mehrfache Bindungsbrüche und die Bildung neuer Moleküle. Alle diese Reaktionen zeigen sich als scharfe Strukturen im detektierten Anionensignal und werden als Feshbach-Resonanzen gedeutet, die effiziente Wegbereiter für DEA sind. Die außergewöhnlich vielfältigen chemischen Reaktionen von 4NI werden bei Methylierung von 4NI an der N1-Position komplett blockiert. Diese bemerkenswerten Resultate haben auch Auswirkung auf die Entwicklung von Radiosensibilisatoren für die Strahlungstherapie von Tumoren auf Basis von Nitroimidazol.

Niederenergetische Elektronen (NEEs) können in Molekülen außergewöhnlich selektive Reaktionen induzieren,^[1,2] die in der Bildung eines temporären metastabilen Elektron-Molekül-Komplexes ($M^{\cdot-#}$; M=Molekül) ihren Anfang

nehmen. Dieses kurzlebige negative Ion kann anschließend in ein neutrales Fragment und ein negativ geladenes Fragment-Ion zerfallen [dissoziative Elektronenanzalagerung, DEA; Gl. (1a)]. DEA konkurriert mit dem Prozess der spontanen Elektronenemission, bei dem das kurzlebige negative Ion das Überschusselektronen wieder abgibt und in einem eventuell angeregten Zustand verbleibt [Gl. (1b)].^[1]



In der Nukleinbase Thymin zum Beispiel ist der Verlust eines neutralen H-Atoms über DEA bei Elektronenenergien unter 3 eV bindungsselektiv – nur die beiden N-H-Bindungen sind involviert.^[3] Durch Ändern der Elektronenenergie kann dieser Prozess sogar positionsselektiv gemacht werden, denn bei Elektronenenergien unter 1.2 eV betrifft der H-Verlust ausschließlich die N1-Stelle.^[4] Ebenfalls wurde gezeigt, dass durch ein einziges Elektron mit einer Energie von ca. 2 eV die Herauslösung von CN^- aus Acetamid induziert werden kann, die über eine komplexe Reaktion mit gemeinsamer Spaltung von mehreren Bindungen und die Bildung neuer Moleküle wie H_2O abläuft.^[5] In theoretischen Studien wurde kürzlich vorhergesagt, dass ein eingefangenes NEE simultan bis zu vier Bindungen in Ringmolekülen brechen kann, bevor das Überschusselektronen wieder abgegeben wird.^[6,7]

In der hier vorgestellten Studie wurde die Anzalagerung von NEEs an 4-Nitroimidazol (4NI) und 1-Methyl-4-nitroimidazol (Me4NI; Abbildung 1) mithilfe massenspektrometrischer

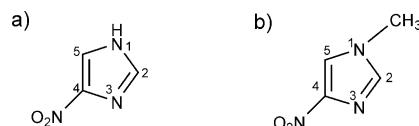


Abbildung 1. Molekülstrukturen von a) 4-Nitroimidazol (4NI) und b) 1-Methyl-4-Nitroimidazol (Me4NI).

Detektion der Anionen untersucht. Beide Moleküle sind bemerkenswert empfindlich gegenüber NEEs mit Energien zwischen 0 und 6 eV, was sich in einer Vielfalt an Fragment-Anionen zeigt, die über verschiedene unimolekulare Zerfallsreaktionen entstehen. Obwohl beide Moleküle dieselben ionischen Endprodukte erzeugen – ausgenommen den Verlust des H-Atoms – wird dieser Vorgang bei Energien unter

[*] K. Tanzer, B. Puschnigg, Prof. Dr. P. Scheier, Prof. Dr. S. Denifl
Institut für Ionenphysik und Angewandte Physik und
Center of Molecular Biosciences, Leopold Franzens Universität
Innsbruck
Technikerstraße 25, 6020 Innsbruck (Österreich)
E-Mail: Stephan.Denifl@uibk.ac.at
Dr. L. Feketeová^[+]
ARC Centre of Excellence for Free Radical Chemistry and Biotechnology, School of Chemistry and Bio21 Institute of Molecular Science and Biotechnology
The University of Melbourne
30 Flemington Road, Victoria 3010 (Australien)
E-Mail: linda.feketeova@gmail.com
Prof. Dr. E. Illenberger
Institut für Chemie und Biochemie – Physikalische und Theoretische Chemie, Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)

[+] Gegenwärtige Adresse: CNRS/IN2P3, UMR5822, Institut de Physique Nucléaire de Lyon, 69622 Villeurbanne (Frankreich)

[**] Diese Studie wurde unterstützt durch den österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (FWF): (P22665). L.F. dankt dem ARC für finanzielle Unterstützung durch das ARC Centre of Excellence program und durch die Zuerkennung eines APD.

© 2014 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

2 eV bei Me4NI, d.h. Methylierung der N1-Position von 4NI, komplett unterdrückt. Dieser Effekt wird durch die Bildung von Schwingungs-Feshbach-Resonanzen (SFRs), die an dissoziative Zustände koppeln und so zu den entsprechenden DEA-Fragmenten führen, interpretiert.^[8]

Nitroimidazol-Verbindungen werden gegenwärtig auf ihr Potenzial als Radiosensibilisatoren für so genannte hypoxische Tumoren (unter Sauerstoffentzug leidende Wucherungen) untersucht.^[9] Da in der Strahlungstherapie auf molekularer Ebene von langsamem sekundären Elektronen induzierte Reaktionen eine wichtige Rolle spielen könnten,^[2,10] ist es von enormer Wichtigkeit, die Reaktion von solchen Radiosensibilisatoren auf NEEs zu untersuchen.

Der verwendete experimentelle Aufbau besteht aus einem gasförmigen Molekülstrahl, einem hemisphärischen Elektronenmonochromator (HEM) und einem Quadrupol-Massenfilter für die Analyse und Detektion der Ionen.^[11] Die Probe von 4NI (Sigma-Aldrich) hatte eine Reinheit von 97 %, Me4NI (BOC-Sciences) eine Reinheit von 98 %. Beide Proben wurden in einem Kupferofen erhitzt und durch eine Kapillare zur Wechselwirkungsregion mit den Elektronen geführt. Die Ofentemperaturen lagen bei 373 und 333 K für 4NI bzw. Me4NI. Die Energieauflösung des HEM betrug 110–150 meV (Halbwertsbreite) und der Elektronenstrom 20 nA, was einen idealen Kompromiss zwischen Energieauflösung und Ionenintensität bedeutet.

In der Folge soll nun gezeigt werden, dass die vielfältige Chemie, die in 4NI durch langsame Elektronen induziert wird, im Bereich 0–2 eV bei der methylierten Probe (Me4NI) komplett unterdrückt wird. Dies zeigt sich nicht nur bei dem Verlust eines neutralen H-Atoms über DEA, sondern auch bei Bindungsbrüchen und Reaktionen, die das ganze molekulare System betreffen. Dieser überraschende und bedeutsame Effekt wird demonstriert für a) den Verlust eines neutralen H-Atoms, b) Bruch der C-NO₂-Bindung und c) eine komplexere unimolekulare Reaktion, die zum Verlust einer neutralen ·OH-Gruppe führt.

Abbildung 2 (oben) zeigt das Ionensignal des schwersten beobachteten Fragment-Ions von Nitroimidazol (4NI) bei 112 u, das durch den Verlust eines neutralen Wasserstoffatoms über die DEA-Reaktion [Gl. (2)] entsteht. M^{–#} bezeichnet in Gleichung (2) das temporäre Anion, das durch Elektronenanzalagerung an 4NI gebildet wird und (M–H)[–] das dehydrierte Anion, das eine abgeschlossene Elektronenkonfiguration aufweist. Die Reaktionsenthalpie für Reaktion (2) beträgt 0.39 eV,^[12] was gut mit den experimentellen Befunden übereinstimmt. Die schwache Resonanz bei 0 eV wird durch DEA an durch den Verdampfungsprozess thermisch angeregtes 4NI erzeugt. Für Me4NI wird kein Signal bei 126 u detektiert. Dies zeigt, dass der H-Verlust bei 4NI ausschließlich von der N1-Position erfolgt und dieser Kanal somit wie erwartet bei Me4NI blockiert ist.



Die Messkurve für (M–H)[–] zeigt bei Energien unter 2 eV mehrere scharfe Maxima und eine breitere Resonanz bei 3.4 eV. Scharfe Maxima bei sehr niedrigen Energien werden üblicherweise, wie auch in diesem Fall, SFRs zugeschrieben.^[8]

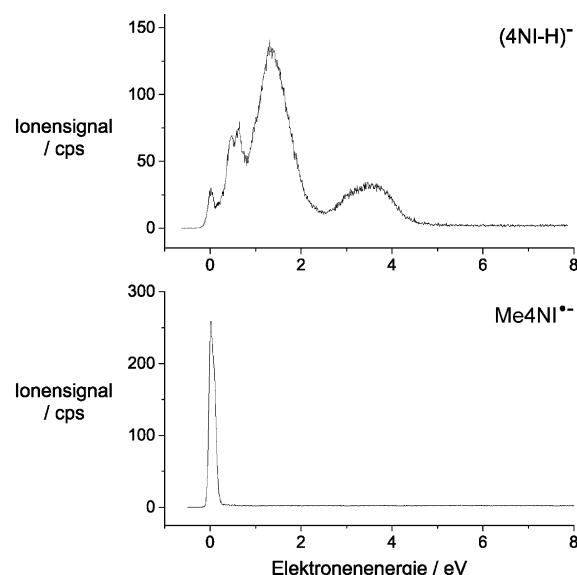


Abbildung 2. Relative Wirkungsquerschnitte für die Bildung von (M–H)[–] aus 4NI (oben) sowie dem metastabilen Parent-Anion M[–] aus Me4NI (unten).

4NI und Me4NI haben überkritische Dipolmomente von 7.78 bzw. 8.50 Debye (berechnet mit M062x/6-311 + G(d,p)-Niveau der Theorie), was diese Zuordnung bestätigt.

Ein ähnliches Verhalten wurde kürzlich in der DNA-Base Thymin (T) beobachtet, wo der H-Verlust nur an den beiden N-Positionen passiert^[3] und wo im Signal von (M–H)[–] scharfe Maxima bei Energien unter 1.2 eV und eine breite Resonanz bei 1.8 eV beobachtet wurden. Da der für T vorgeschlagene DEA-Mechanismus höchstwahrscheinlich auch hier zutrifft, folgt eine kurze Erklärung. Dazu muss jedoch gesagt werden, dass bei T die einzige Reaktion, die bei Energien unter 3 eV auftritt, der Wasserstoffverlust ist, während 4NI eine wesentlich vielfältigere Reaktionsschemie zeigt.

Methylierung von T an der N1-Position resultierte in einer totalen Unterdrückung der scharfen Strukturen bei 1 eV, was darauf schließen lässt, dass H-Verlust exklusiv an der N1-Position erfolgt.^[4] Eine detaillierte Analyse identifizierte diese Strukturen als SFRs, bei denen die N1-H-Streckschwingung dominant involviert ist.^[11,13] Diese SFRs koppeln mit dem repulsiven σ*(N1-H)-Zustand, was schlussendlich zum Verlust des Wasserstoffatoms an der N1-Position führt. Die unstrukturierte Resonanz bei 1.8 eV (entspricht zum Großteil dem H-Verlust von der N3-Position) wird als eine Elektronenanzalagerung in ein π*-Molekülorbital mit vibronischer Kopplung angenommen; dies bedeutet ein Vermischen von Zuständen mit repulsivem σ*-Valenzcharakter durch Schwingungsbewegung entlang der brechenden Bindung.

Die Situation für 4NI und Me4NI ist offensichtlich sehr ähnlich der für T. Man muss jedoch anmerken, dass die adiabatische Elektronenaffinität von 4NI 0.73 eV^[12] beträgt, was bedeutet, dass sich schwingungsangeregte Valenz-Anionen bilden können, die mit Dipolzuständen koppeln können, wie schon für das Nithromethan-Anion vorgeschlagen wurde.^[14] Die Resonanz bei 3.4 eV wird in Folge als vibronischer Kopplung unterliegende π*-Resonanz interpretiert.

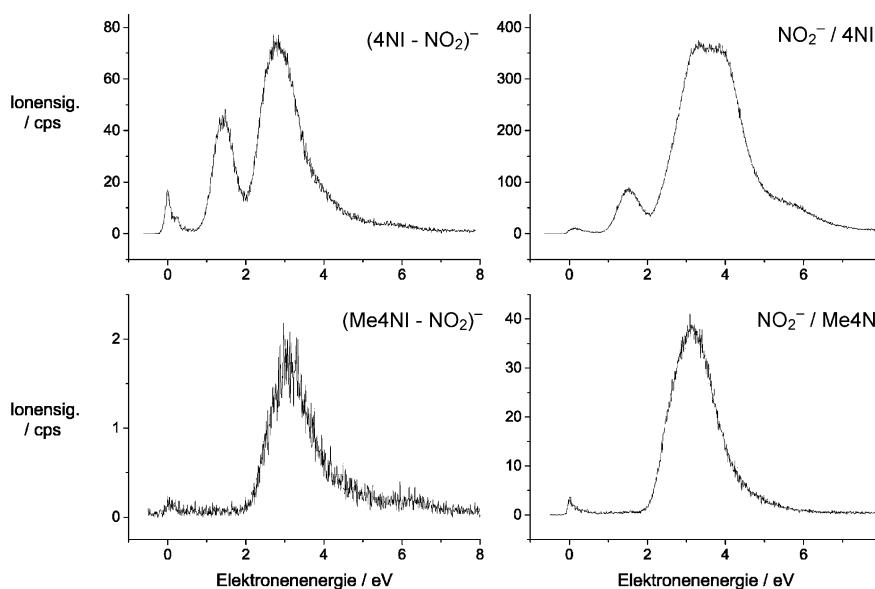


Abbildung 3. Relative Wirkungsquerschnitte für die Bildung der Ionen NO_2^- und $(\text{M}-\text{NO}_2)^-$ aus 4NI und Me4NI.

Wie bereits erwähnt, wird in Me4NI kein H-Verlust beobachtet, sondern das metastabile Molekül-Anion (M^- , 127 u) nahe 0 eV (Abbildung 2, unten). Hier muss angemerkt werden, dass ein effizienter Energietransfer vom eingefangenen Elektron in die internen Freiheitsgrade des Moleküls stattfinden muss, um spontane Elektronenemission in das μ -Zeitregime (nötig für die Detektion) zu verzögern.^[15]

Der Bruch der C- NO_2 -Bindung wird durch die beiden komplementären DEA-Reaktionen (3a) und (3b) verursacht. Die jeweilige Abhängigkeit von der Elektronenenergie wird in Abbildung 3 gezeigt.



Augenscheinlich ist, dass für beide dieser komplementären Ionen die Reaktion bei Energien kleiner als 2 eV für Me4NI komplett unterdrückt wird. Der kleine Peak nahe 0 eV ist mit großer Wahrscheinlichkeit ein Artefakt und erinnert an die Eigenheiten von DEA.^[1] Die Reaktionsenthalpie (ΔH°) für die DEA-Reaktionen (3a) und (3b) ist gegeben durch die Bindungsenergie $D(\text{C-NO}_2)$ minus der Elektronenaffinität des Fragments, auf dem das Überschusselektron schlussendlich lokalisiert ist. Für Reaktion (3a) ist $\Delta H^\circ = 0.8$ eV, was sich aus der mittleren Bindungsenergie in aromatischen Nitroverbindungen ($D(\text{C-NO}_2) = 3.1$ eV^[16]) und der Elektronenaffinität von NO_2 (2.27 eV) ergibt.^[17] Dieses Beispiel zeigt, dass Methylierung an der N1-Position nicht nur den Bruch der N1-CH₃-Bindung durch NEEs blockiert, sondern auch den der C4-NO₂-Bindung.

Das letzte hier präsentierte Beispiel betrifft eine deutlich komplexere DEA-Reaktion, nämlich den Verlust der neutralen $\cdot\text{OH}$ -Gruppe, für den zwei Bindungen gebrochen werden müssen, um anschließend $\cdot\text{OH}$ zu bilden (Abbildung 4). Wiederum wird die Reaktion für Me4NI bei Energien unter 2 eV unterdrückt, was darauf hindeutet, dass

Feshbach-Resonanzen in 4NI an Valenzkonfigurationen koppeln, was mit mehreren Bindungsbrüchen verbunden ist. Ein genauerer Blick auf den Energiebereich zwischen 0 und 2 eV zeigt, dass die Gegenwart und relative Intensität der scharfen Maxima leicht zwischen den verschiedenen ionischen Produkten variiert. Die überlappenden, scharfen Resonanzen bei 0.7 und 0.8 eV, die im Wirkungsquerschnitt von $(\text{M}-\text{H})^-$ beobachtet werden, sind bei den anderen Fragment-Ionen nicht zu sehen.

Für beide Moleküle werden zusätzlich das Ion $((\text{M}-\text{CO}_2)^-)$, das durch den Verlust einer neutralen CO_2 -Gruppe entsteht, sowie die beiden Ionen CN^- und OCN^- beobachtet. Während CN^- durch die Abspaltung von zwei benachbarten C-

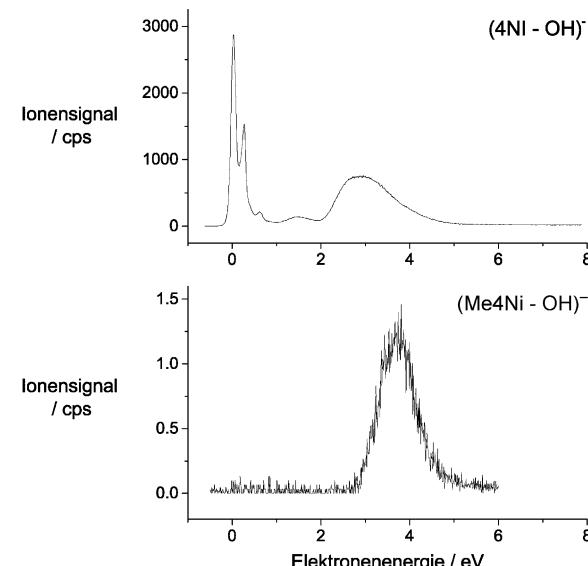


Abbildung 4. Relativer Wirkungsquerschnitt für die Bildung des Ions, das durch den Verlust des neutralen $\cdot\text{OH}$ -Radikals aus 4NI und Me4NI gebildet wird.

und N-Atomen gebildet werden kann, benötigt die Bildung von OCN^- den Transfer eines Sauerstoffatoms. Für alle diese drei Fragment-Ionen zeigt das Ionensignal für 4NI scharfe Strukturen im Energiebereich unter 2 eV, während diese Reaktionen im Fall von Me4NI komplett unterdrückt werden. Diese Beispiele zeigen, dass Methylierung der N1-Position das gesamte Molekül beeinflusst und dass hier SFRs effiziente Wegbereiter für eine Vielzahl an DEA-Reaktionen sind. An dieser Stelle ist auch wichtig zu erwähnen, dass es egal ist, an welcher C-Position sich die NO_2 -Gruppe befindet. DEA-Experimente mit 1-Methyl-5-nitroimidazol (M5NI) zeigen die Produktion derselben Fragment-Ionen und virtuell identische Resonanzpositionen im Vergleich mit Me4NI.^[18]

In dieser Studie wurde gezeigt, dass in Nitroimidazol die scharfen Maxima, die im relativen DEA-Wirkungsquerschnitt vorliegen, im Energiebereich unter 2 eV bei Methylierung der N1-Position vollkommen unterdrückt werden. Erstaunlicherweise blockiert Methylierung nicht nur den Bruch der N1-CH₃-Bindung, sondern unterdrückt auch die vielfältigen chemischen Reaktionen des Moleküls im Energiebereich unter 2 eV. Im Hinblick auf ihren möglichen Gebrauch als Radiosensibilisatoren kann man festhalten, dass durch ionisierende Strahlung gebildete sekundäre NEEs mit Energien von 0–2 eV nur in Nitroimidazol Radikale wie ·OH produzieren und nicht in Methylnitroimidazol. Diese Radikale induzieren die so genannte indirekte Schädigung der DNA, der bis zu zwei Dritteln aller DNA-Schäden durch ionisierende Strahlung zugeordnet werden.^[2,10]

Eingegangen am 22. Juli 2014

Online veröffentlicht am 15. September 2014

Stichwörter: Gasphasenreaktionen · Massenspektrometrie · Metastabile Verbindungen · Niederenergetische Elektronen · Reaktionsmechanismen

[1] J. Langer, R. Balog, M. Stano, H. Abdoul-Carime, E. Illenberger, *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *233*, 267–291.
[2] I. Baccarelli, I. Baldi, F. A. Gianturco, E. Illenberger, J. Kopyra, *Phys. Rep.* **2011**, *508*, 1–44.
[3] H. Abdoul-Carime, S. Gohlke, E. Illenberger, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 168103.

[4] S. Ptasinska, S. Denifl, P. Scheier, E. Illenberger, T. D. Märk, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6941–6943; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7101–7103.
[5] C. König-Lehmann, J. Kopyra, I. Dabkowska, J. Kosicek, E. Illenberger, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 6954–6961.
[6] D. Davis, V. P. Vysotskiy, Y. Sajeev, L. S. Cederbaum, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4119–4122; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4205–4208.
[7] D. Davis, V. P. Vysotskiy, Y. Sajeev, L. S. Cederbaum, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 8003–8007; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 8127–8131.
[8] H. Hotop, M.-W. Ruf, M. Allan, I. I. Fabrikant, *Adv. At. Mol. Opt.* **2003**, *49*, 85–216.
[9] G. E. Adams, I. R. Flockhart, C. E. Smithen, I. J. Stratford, P. Wardman, M. E. Watts, *Rad. Res.* **2012**, *178*, AV183–AV189.
[10] L. Sanche, *Europ. J. Phys. D* **2005**, *35*, 367–390.
[11] P. D. Burrow, G. A. Gallup, A. M. Scheer, S. Denifl, S. Ptasinska, T. D. Märk, P. Scheier, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 124310.
[12] L. Feketeová, A. L. Albright, B. S. Sørensen, M. R. Horsman, J. White, R. A. J. O'Hair, N. Bassler, *Int. J. Mass Spectrom.* **2014**, *365–366*, 56–63.
[13] A. M. Scheer, K. Aflatoonni, G. A. Gallup, P. D. Burrow, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 068102.
[14] T. Sommerfeld, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 2511–2516.
[15] *Gaseous Molecular Ions. An Introduction to Elementary Processes Induced by Ionization*, Vol. 2 (Hrsg.: E. Illenberger, J. Momigny), Steinkopff Verlag, Darmstadt/Springer, New York, **1992**.
[16] T. B. Brill, K. J. James, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2667–2692.
[17] NIST Chemistry webbook: <http://webbook.nist.gov/chemistry>.
[18] K. Tanzer, L. Feketeová, B. Puschnigg, P. Scheier, E. Illenberger, S. Denifl, unveröffentlichte Ergebnisse.