

Organische Katalysatoren. Die Synthese von 1,1'-Diimidazolen und die katalytische Aktivität ihrer Häminkomplexe

VON WINFRIED SCHÜTZE UND HERMANN SCHUBERT

Mit 4 Abbildungen

Herrn Professor Dr. W. Langenbeck zum 60. Geburtstage gewidmet

Inhaltsübersicht

Es werden die Synthesen von vier 1,1'-Diimidazolen durch Umsetzung des Grundkörpers mit ω , ω' -Dihalogenkohlenwasserstoffen beschrieben. Die Katalase- und Peroxydase-Aktivität ihrer Komplexverbindungen mit Hämin wurde gemessen. Die gefundenen Aktivitätswerte übersteigen die der bisher untersuchten Imidazol-Parahämatine.

Der Weg für den Zweck einer „systematischen Aktivierung“¹⁾ von Parahämatinen als Katalase- und Peroxydasemodelle durch Substitution an den Imidazolen, die diese Komplexe aufbauen, ist klar vorgezeichnet. Es scheint nur erfolgversprechend, nach der an anderen Modellsubstanzen bewährten Weise am Imidazol allein in der 1-Stellung „weiter zu bauen“. Die dafür geeignet erscheinenden Substituenten stehen dann weit entfernt vom tert. Stickstoff, dem komplexaktiven Zentrum der Imidazole. Eine Beeinträchtigung für die Ausbildung der Häminkomplexe durch Sperrigkeitseffekte, wie sie bei Besetzung der 2-, 2,4 (5)- und 4,5-Stellung am Imidazolring nachgewiesen wurden²⁾, ist damit ausgeschlossen.

Nach der Prüfung des Aktivitätsverhaltens der Parahämatine aus Imidazolen mit verschiedenen Arylresten in der 1-Stellung³⁾ sollten nun Derivate herangezogen werden, die als neuen Substituenten den Imidazolrest in dieser Ringstellung tragen. Für die Struktur der beide Heterocyklen dann verbindenden Brückenglieder besteht eine recht große Variationsbreite. Zur Untersuchung von Parahämatinen

¹⁾ W. LANGENBECK u. Mitarb., *Angew. Chemie* **44**, 421 (1931); *Liebigs Ann. Chem.* **485**, 53 (1931)

²⁾ W. LANGENBECK u. Mitarb., *Liebigs Ann. Chem.* **585**, 68 (1954).

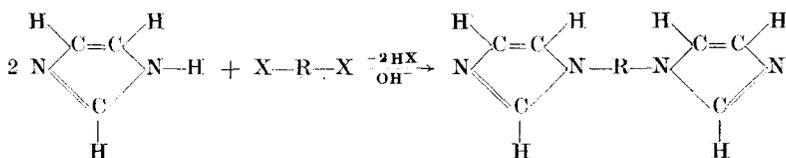
³⁾ Diplomarbeit W. HÖRINGLEE, Halle 1954.

aus Diimidazolen fällt die Auswahl nicht nur aus sterischen Gründen auf Verbindungen vom Typ der 1,1'-Verknüpfung. Nach dem vorliegenden Material zeigen in der Regel Diimidazole mit unbesetzter 1-Stellung solche extremen Löslichkeitsverhältnisse, daß sie von vornherein aus dem Kreis der Untersuchung auszuschließen sind.

Wir berichten zunächst über Synthese und katalytische Aktivität der Parahämatine einiger Diimidazole in der Anwendung einer konventionellen Meßtechnik. Auf die vorliegenden besonderen Bedingungen der Partnerschaft des bifunktionellen Komplexbildners (Hämin) mit dem bifunktionellen Liganden (Diimidazol) und die sich daraus ergebenden Folgerungen soll später gesondert eingegangen werden.

Synthesen

Die Umsetzung des Grundkörpers mit ω , ω' -Dihalogenkohlenwasserstoffen bietet sich als modifiziertes Alkylierungsverfahren zur Darstellung der 1,1'-Diimidazole als der einfachste Weg an:



X: Cl; Br

R: CH_2 (I); $(\text{CH}_2)_2$ (II); $(\text{CH}_2)_4$ (IV); CH_2 -- CH_2 (X).

Als Nachteil zeigt sich sofort der komplexe Reaktionsablauf, wie er von ähnlichen Umsetzungen anderer Heterocyclen bekannt ist^{4) 5)}. Dibromderivate setzen sich ohne Lösungsmittel nach vorsichtigem Erwärmen außerordentlich heftig um. Der erste Schritt der Alkylierung führt zu den sehr reaktionsfähigen Halogenalkyl-imidazolen⁶⁾, über die dann die Quaternisierung abläuft. Diese läßt sich in erträglichen Grenzen halten durch das Verhältnis der beiden Reaktionskomponenten (Imidazol: Dihalogenverbindung = 4:1) und durch die Ermittlung des für die Alkylierung günstigsten Temperaturbereiches. Für die Umsetzung mit Dibromverbindungen kommt man mit 40–50° noch zu „tragbaren“ Reaktionszeiten. Das trägere Methylchlorid zeigt <150° keine merkliche Reaktion.

⁴⁾ I. v. BRAUN u. Mitarb., Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 4347 (1906).

⁵⁾ I. v. BRAUN u. Mitarb., Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 1639 (1917).

⁶⁾ Vgl. I. v. BRAUN u. Mitarb., Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 2156 (1908).

Eine Alkylierung nach H. STETTER⁷⁾, die sich in der Benzotriazolreihe sehr gut bewährte, über die Na-Salze der Base in einem höheren abs. Alkohol ließ sich nur mit 1,4-Dibrombutan durchführen, sie versagte völlig mit dem entsprechenden Äthanderivat und mit Methylenchlorid. Für den Einbau der p-Xylylenbrücke waren Temperaturen $>100^\circ$ notwendig.

Die Verwendung der Imidazol-Silbersalze — wobei der notwendige Lichtschutz des Reaktionsgutes für die längere Umsatzzeit recht un- bequem ist — erwies sich für unsere Zwecke ungeeignet.

Eigenschaften

Diimidazolymethan und -äthan sind in kaltem Wasser gut löslich. Sie können aus unpolaren Lösungsmitteln (Benzol, Petroläther) umkristallisiert werden. Die beste Reinigung für kleinere Mengen ist die Vakuumsublimation. Hierbei fallen beide Verbindungen als mikrokristalline weiße Pulver an. Mit wachsender Länge des Brückengliedes (Butylen und Xylylen) sinkt die Wasserlöslichkeit sehr schnell. Beide Basen kristallisieren aus Wasser in cm-langen Nadeln als Dihydrate. Sie halten ihr Kristallwasser außerordentlich fest gebunden. Beim

Butylenderivat gelang es uns bisher nicht, dieses Diimidazol in einer beständigen wasserfreien Form mit befriedigenden Analysenwerten zu erhalten. Alle vier Substanzen lassen sich durch ihre Dipikrate sehr gut charakterisieren.

Katalaseaktivität

Im Meßbereich von p_H 2,7—8,0 wurden an 10—12 verschiedenen Punkten Aktivitätsbestimmungen vorgenommen. Beim Zusammengeben der Parahämatinlösung (6,5 molarer Überschuß der Diimidazole) mit der Substratlösung tritt augenblicklich eine kräftige Katalasereaktion ein, so daß eine „Titration zur Zeit 0“ durch ein

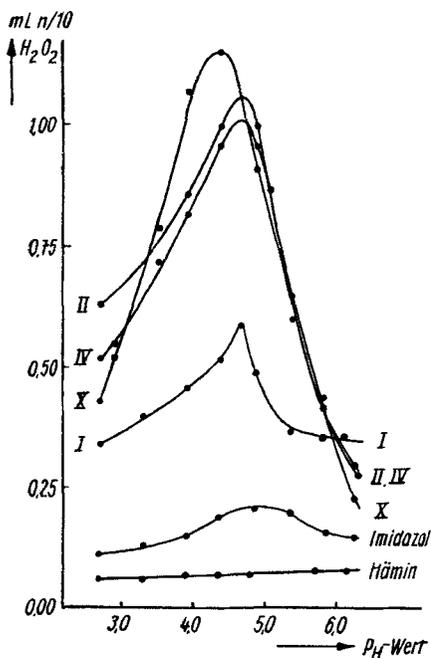


Abb. 1. Katalaseaktivität der Diimidazol-Parahämatine nach 3 Minuten

⁷⁾ H. STETTER, Ber. dtsh. chem. Ges. 86, 72 (1953).

Bestimmungsverfahren nach W. LANGENBECK und K. OEHLER⁸⁾ zu ersetzen ist. Aus dem Diagramm ist das ausgeprägte Aktivitätsmaximum gut ersichtlich. Das aktivste Parahämatin aus der Base X hat in den ersten Minuten die 5,5fache Leistung wie der Komplex aus dem Grundkörper. Das Abklingen der katalytischen Umsetzung ist aber auch bei der aktivsten Verbindung am stärksten. Durch die Parahämatinbildung der Diimidazole wird die Aktivität, die dem Hämin selbst zukommt, im besten Falle auf das 16,5fache gesteigert.

Die zersetzte Menge H_2O_2 ist bekanntlich der Zeit der Katalysator-einwirkung nicht direkt proportional. Während die Zeit-Umsatzkurven für das Hämin von der 3. bis 60. Minute und auch für das Imidazolparahämatin fast linear verlaufen, zeigen die aktiveren Komplexe der Diimidazole gegenüber der anfänglichen Reaktionsgeschwindigkeit eine beträchtliche Verringerung gegen Ende der max. 1 Stunde betragenden Einwirkungszeiten.

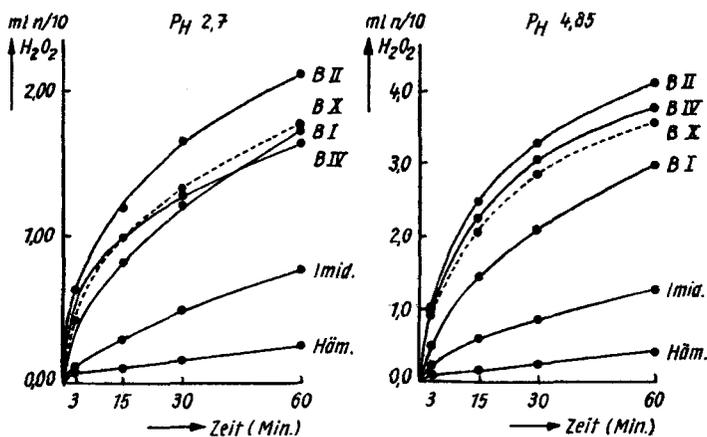


Abb. 2. Zeit-Umsatzkurven der Diimidazol-Parahämatine

Peroxydaseaktivität

Die Bestimmung der Peroxydasewirkung der Diimidazolparahämatine erfolgte nach der Pyrogallol-Methode. Im Bereich von p_H 3,4–5,2 wurde an fünf verschiedenen Punkten gemessen. Die angegebenen Werte sind korrigiert. Die optimalen Wirkungsbereiche sind hier im gleichen Sinne verschoben wie im Falle der Katalasewirkung: Das Parahämatin der Base II ist Träger der stärksten Aktivität. Der Wert beträgt das

⁸⁾ Diplomarbeit K. OEHLER, Halle 1956.

2,8fache des Grundkörpers und entspricht dem des 1-(β -Naphthylsulfonsäure)-imidazolparahämamins³).

Wegen der geringen Löslichkeit der Basen IV und X in Wasser wurde mit Katalysatorlösungen von recht geringer Konzentration gearbeitet. Demzufolge wird auch die Parahämatinbildung, die eine typische Gleichgewichtsreaktion darstellt, sehr verzögert werden.

Wir haben über Wochen hin die Aktivitätswerte dieser Katalysatorstammmlösungen verfolgt. Es waren weder Aktivitätsverluste noch

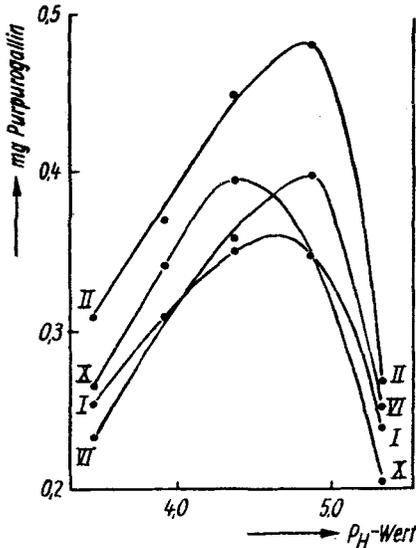


Abb. 3. Peroxydaseaktivität der Diimidazol-Parahämatine

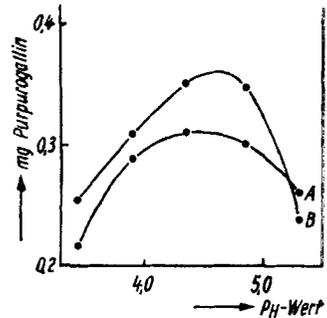


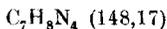
Abb. 4. Peroxydaseaktivität des Parahämamins der Base I. A nach 14 Tagen; B nach 24 Tagen

Ausflockprozesse als die sichtbaren Zeichen des „Alterns“ zu beobachten. Für das Auftreten der optimalen Wirkung erst nach der langen Zeit von 3–4 Wochen ist eine Erklärung „aus der Einstellung des Gleichgewichtes“ wohl nur bedingt zu geben.

An Hand unseres Versuchsmaterials wäre eine Aussage über die Beziehung Konstitution—katalytische Aktivität der Diimidazole in ihren Parahämatinen verfrüht. Die Lage der Aktivitätsmaxima im schwachsauren Gebiet entspricht der Vorstellung, daß eine partielle Dissoziation zu einem Komplex mit nur einer Basenmolekel führt, in dem das katalytische Zentrum dann „freigelegt“ ist. Das Parahämatin der Base I ist in beiden Fällen die leistungsschwächste Verbindung, das aus dem Diimidazol II aber in jedem Falle gleich gut wirksam. Bei einem exakten Vergleich mit den Aktivitäten des Grundkörpers müßten alle Werte der Diimidazole, da sie ja bifunktionell sind, halbiert werden. Gegen ein solches Vergleichsverfahren sprechen jedoch die mit I erhaltenen Aktivitätswerte.

Beschreibung der Versuche⁹⁾**Di-[imidazolyl-(1)]-methan**

In einer dickwandigen Ampulle werden 3,4 g (0,05 Mol) sorgfältig getrocknetes und fein pulverisiertes Imidazol mit 0,8 ml (0,0125 Mol) Methylenchlorid 12 Stunden auf 150—170° erhitzt. Nach dem Öffnen wird das schwach erwärmte Reaktionsprodukt mit wenig warmem Wasser herausgespült und mit 3 g pulverisierter Soda behandelt. Nach beendeter CO₂-Entwicklung wird über P₂O₅ getrocknet. Nach dem Pulverisieren wird im Ölpumpenvakuum sublimiert. Bei einer Badtemperatur von 80—110° sublimiert überschüssiges Imidazol, bei 170—180° folgt das Diimidazol. Reinigung durch wiederholte Vakuumsublimation oder über das Dipikrat. Aus 1,3 g Rohbase wurden 0,4 g (21,6% d. Th.) reine Verbindung vom Schmp. 171—172° erhalten.



gef. C 56,80 H 5,68 N 38,26
ber. C 56,74 H 5,44 N 37,82.

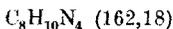
Das Dipikrat kristallisiert aus Wasser in gelben Nadeln vom Schmp. 227—228°.



gef. C 37,62 H 2,25 N 23,14
ber. C 37,63 H 2,33 N 23,10.

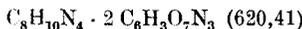
1,2-Di-[imidazolyl-(1)]-äthan

Eine innige Mischung von 3,4 g (0,05 Mol) Imidazol und 1,08 ml (0,0125 Mol) 1,2-Dibromäthan werden in einem kleinen verschlossenen Kolben 20 Stunden auf 50° erwärmt. Der Inhalt ist danach völlig durchgeschmolzen. Nach weiteren 30 Stunden ist die Schmelze zähflüssig und milchig trübe. Aufarbeitung und Reinigung wie vorstehend. Aus 1—1,5 g Rohbase werden 0,3—0,6 g (15—30% d. Th.) reine Verbindung erhalten. Weißes Pulver vom Schmp. 156,5—157,5°.



gef. C 59,13 H 6,38 N 34,80
ber. C 59,24 H 6,22 N 34,54.

Das Dipikrat kristallisiert aus 75proz. Äthanol in gelben Blättchen vom Schmp. 264—265°.



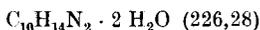
gef. C 38,40 H 2,85 N 22,26
ber. C 38,72 H 2,60 N 22,58.

1,4-Di-[imidazolyl-(1)]-butan

3,4 g (0,05 Mol) Imidazol werden mit 1,1 g Na (0,048 Mol) in 25 ml abs. Butanol gelöst. Bei 60—70° werden unter Umschütteln 3 ml (0,025 Mol) 1,4-Dibrombutan zugegeben. Es wird vorsichtig weiter erwärmt bis unter Aufsieden die Reaktion einsetzt. Danach wird noch 1 Stunde im schwachen Rückfluß gehalten. Nach dem Abkühlen wird vom ausgeschiedenen NaBr abfiltriert, und der Rückstand mit warmem Butanol nachgewaschen. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert. Die Rohbase geht bei 220—225°/3 mm Hg als farbloses Öl über, das schnell erstarrt. Ausbeute:

⁹⁾ Alle Schmp. korr.

2,3 g (48% d. Th.). Aus Wasser kristallisiert in schönen Nadeln ein Dihydrat vom Schmp. 58—75°.



gef.	C 52,80	H 7,74	N 24,98
ber.	C 53,08	H 8,02	N 24,76.

Das Dipikrat kristallisiert aus Wasser in gelben Blättchen vom Schmp. 232—234°.



gef.	C 40,72	H 3,26	N 21,78
ber.	C 40,75	H 3,11	N 21,60.

1,1'-p-Xylylendiimidazol

In einer Ampulle werden 1,7 g (0,025 Mol) Imidazol und 1,08 g (0,00625 Mol) p-Xylylendichlorid 1 Stunde auf 150—160° erhitzt. Das gelbbraune Harz wird mit wenig warmem Wasser herausgespült. Dann wird tropfenweise verd. NaOH zugesetzt bis sich ein Öl abscheidet. Nach dem Abtrennen und Versetzen mit dem gleichen Volumen Wasser erstarrt es zu einem flockigen Niederschlag. Nach dem Abfiltrieren, Waschen und Trocknen erhält man 0,4—0,6 g (29—44% d. Th.) Rohbase. Aus Benzol kristallisiert die wasserfreie Verbindung vom Schmp. 131—132°, aus Wasser in Nadeln ein Dihydrat vom Schmp. 65—75°.



gef.	C 70,40	H 5,62	N 22,95
ber.	C 70,56	H 5,92	N 23,52.

Das Dipikrat kristallisiert aus verd. Äthanol in gelben Nadeln vom Schmp. 272—273°



gef.	C 45,15	H 3,09	N 20,02
ber.	C 44,83	H 2,89	N 20,11.

Katalytische Messungen

Substratlösung: n/10 H₂O₂-Lösung, dreimalige tägliche Kontrolle durch Titration mit Kaliumpermanganatlösung.

Katalaseaktivität. Parahämatingstammllösung: 12,5 mg umkristallisiertes Häm in werden mit 25 ml m/20 Na₂HPO₄-Lösung in einem 50-ml-Meßkolben 30 Minuten unter häufigem Umschwenken auf einem Wasserbad erwärmt. Die Häm inlösung wird abgekühlt und mit 1,25 · 10⁻⁴ Mol Base versetzt (I = 18,5 mg, II = 20,25 mg, III 28,25 mg (Dihydrat), X 29,75 (Dihydrat)). Nach dem Auffüllen auf 50 ml ist die Konzentration dieser Lösung c_{Häm in} = 3,8 · 10⁻⁴ m, c_{Dihimidazol} = 2,5 · 10⁻³ m.

In einem 100-ml-Meßkolben werden 20 ml m/10 H₂O₂-Lösung und 20 ml m/5 Pufferlösung gegeben. Dann wird mit CO₂-freiem dest. Wasser auf 90 ml aufgefüllt. Der Kolben wird 1 Stunde in Eis gekühlt. Danach werden 2 ml vorgekühlte Stammllösung zugegeben, mit CO₂-freiem, gekühltem dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt und schnell geschüttelt. Probenentnahmen je 20 ml nach 3, 15, 30 und 60 Minuten. Der Rest wird zur p_H-Messung verwendet. Jede Probe wird in 10 ml 10proz. H₂SO₄ gegeben und sofort mit n/10 KMnO₄-Lösung titriert.

Pufferlösungen: p_H 2,7 n Essigsäure; p_H 3—5,5 m/5 Essigsäure-Na-Acetat; p_H 6—8 m/5 Phosphatpuffer nach SÖRENSEN.

Peroxydaseaktivität. Parahämatingstammllösung: 12,5 mg Häm in werden wie vorstehend gelöst und auf 50 ml aufgefüllt. Davon werden 10 ml in einen 50-ml-Meßkolben gegeben, mit $1,25 \cdot 10^{-4}$ Mol Base versetzt und auf 50 ml aufgefüllt; Konzentrationen dieser Lösung $c_{\text{Häm in}} = 0,76 \cdot 10^{-4}$ m; $c_{\text{Dimidazol}} = 2,5 \cdot 10^{-3}$ m.

In einem 100-ml-Meßkolben werden 4 ml n/10 H_2O_2 -Lösung und 20 ml Pufferlösung gegeben. Mit CO_2 -freiem dest. Wasser wird auf 100 ml aufgefüllt, dann 1 Stunde in Eis gekühlt. Während dieser Zeit werden 0,25 g sublimiertes Pyrogallol in einen 200-ml-ERLENMEYER-Kolben eingewogen und gekühlt. Das Pyrogallol wird mit dem Inhalt des Meßkolbens übergossen und durch Umschütteln in Lösung gebracht. Es werden unter gutem Durchmischen 2 ml Stammlösung zugegeben, dann 15 Minuten in Eis gestellt. Die jetzt gelbe Mischung wird in 20 ml 10proz. H_2SO_4 gegossen und sofort viermal mit je 30 ml peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird der Äther in einem 200-ml-Meßkolben dekantiert, das Trockenmittel gründlich nachgespült und auf 200 ml aufgefüllt. Unter Verwendung von Blaufiltern wird kolorimetriert. Einstellung der p_{H} -Werte nur mit Acetatpuffern.

Halle, Institut für organische Chemie der Martin-Luther-Universität.

Bei der Redaktion eingegangen am 23. Februar 1959.