

Über die Einwirkung von Diazomethan auf Hämine.

Von

William Küster.

Nach Versuchen der Herren Dipl. Ing. O. Geering u. O. Kusch.

(Mitteilung aus dem Laboratorium für organische und pharmazeutische Chemie der Technischen Hochschule Stuttgart.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. Sept. 1917.)

Während Bilirubin und Hämatoporphyrin durch Diazomethan vollständig verestert werden, d. h. der Zweibasigkeit beider Stoffe entsprechend sich die Dimethylester bilden, stößt, wie bereits kurz erwähnt wurde, die Veresterung des Hämins durch Diazomethan auf Schwierigkeiten.¹⁾ Diese Notiz gründete sich auf einen Versuch mit einem β -Brom-Hämin, das mit Hilfe von Methylalkohol hergestellt worden war und allem Anschein nach durch Diazomethan keine Veränderung erfahren hatte.

Wir haben nun einige weitere Häminpräparate der Einwirkung von Diazomethan ausgesetzt und, was zunächst α -Hämine betrifft, gefunden, daß nur wenige Prozente des verwendeten Chlor-Hämins monomethyliert werden, α -Brom-Hämin blieb sogar fast unberührt.

Ein sehr bemerkenswertes Ergebnis wurde dann bei der Einwirkung von Diazomethan auf β -Hämine erhalten:

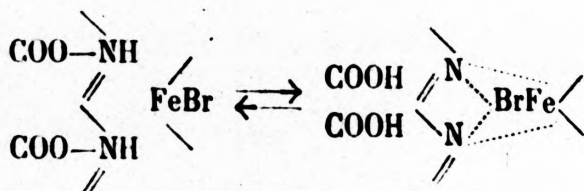
1. Bei einem mit Hilfe von Äthylalkohol dargestellten β -Chlor-Hämin, das ein Gemisch von 3 Teilen β -Chlor-Hämin mit einem Teil Monoäthyl-Chlor-Hämin vorstellt, da es 0,93% C_2H_5 enthält, wurden 70% des verwendeten Hämins monomethyliert, d. h. das Präparat enthielt jetzt auf drei Teile Monomethyl- β -Chlor-Hämin einen Teil Monomethylmonoäthylester.

2. Ein Monoäthyl-Brom-Hämin wurde in den Methyläthylester übergeführt und zwar fast vollständig.

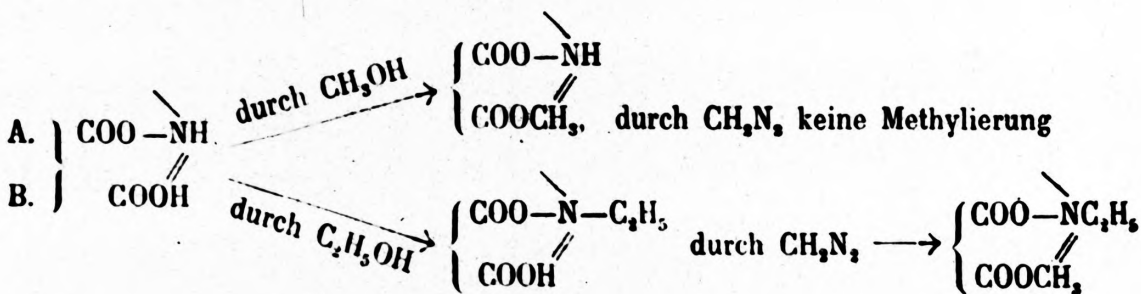
3. Ein Monomethyl-Chlor-Hämin wurde nicht verändert.

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 94, S. 159 und 184 (1915).

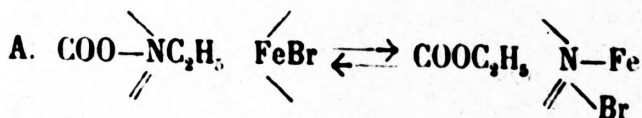
4. Ein Häminpräparat, das nur 0,8 % CH_3 enthielt, also etwa zur Hälfte aus β -Chlor-Hämin, zur anderen aus dem Monomethylester bestand, wurde zu etwa 50 % der angewendeten Menge vollständig monomethyliert. Aus diesen Befunden geht hervor, daß eine Veresterung des zweiten Carboxyls beim β -Hämin durch Diazomethan nur stattfinden kann, wenn das erste Carboxyl durch Äthyl esterifiziert ist, woraus geschlossen werden kann, daß in den untersuchten Häminen durch Äthylalkohol ein anderes Carboxyl verestert wird wie durch Methylalkohol. — In diesen Ergebnissen liegt ein neuer Beweis dafür vor, daß die beiden Carboxyle des Hämins nicht gleichwertig sind, sondern durch die Gesamtkonfiguration verschieden stark beeinflußt werden, und auch dafür, daß eine Beziehung zwischen Carboxylen, basischen Gruppen und der Halogeneisengruppe besteht und daß das eine Carboxyl mit den basischen Stellen in engerer Beziehung steht wie das andere. Denn die Verhinderung der Esterifizierung durch Diazomethan könnte durch betainartige Bindung verursacht sein, im α -Brom-Hämin wäre dann das Gleichgewicht:



weit nach links verschoben, im α -Chlor-Hämin würde diese Verschiebung eine weniger weitgehende sein, insofern wenigstens das eine Carboxyl teilweise ausgeschaltet ist, so daß es der Veresterung zugänglich wird. Ähnliches gilt dann für die Veresterung durch Methylalkohol, während sich die Äthylierung am anderen Carboxyl abspielt. Die Vorgänge würden sich also wie folgt darstellen lassen:



wobei unentschieden bleiben muß, in welchem Grade das Gleichgewicht:



nach rechts oder links verschoben ist.¹⁾

Eine Ausdehnung der Versuche auf weitere Häminpräparate ist beabsichtigt, um eine breitere Grundlage zu gewinnen, die einen sicheren Einblick in die verwickelten, bei der Veresterung des Hämins sich abspielenden Reaktionen gestattet.

Experimenteller Teil.

I. Zur Darstellung von β -Hämin dienten 10 Liter Blut eines 13jährigen Wallachs (Oldenburger Schlag), der wegen Sehnenentzündung geschlachtet wurde. Durch Senkung ergaben sich 5 Liter Blutkörperbrei, von denen je die Hälfte mit reinem Methylalkohol-Kahlbaum, dem 10% Wasser zugefügt wurden, und mit 90% igem Äthylalkohol nach der Methode von Mörner verarbeitet wurden.

A. Produkt mit Methylalkohol. Ausbeute 11,5 g β -Hämin mit 1,25% CH_3 .²⁾

(0,3258 g Substanz [110°] : 0,0638 AgJ).

Durch dreimalige Behandlung mit Chloroform bei Z.-T. gingen 1,89 g in Lösung — beim dritten Mal nur noch 0,21 g —.

a) Das gelöste Hämin krystallisierte aus Methyläthylketon in feinen Nadelchen, war unlöslich in 4% iger Sodalösung bei Z.-T., löste sich aber beim Erwärmen, stellte also ein Monomethyl- β -Chlor-Hämin vor, was die Analyse bestätigte.

0,3732 g Substanz (110°) : 0,1150 AgJ = 1,96% CH_3 .

Die Einwirkung von Diazomethan ließ das Präparat unverändert.

0,4 g wurden in 50 ccm Chloroform gelöst mit 4 Molekeln

¹⁾ Diese Darlegungen setzen voraus, daß eine Umlagerung im Hämin, die zur Bildung einer Lactonsäure führt, nicht in Frage kommt, vgl. diese Zeitschr., Bd. 99, S. 234/35 (1917).

²⁾ Die Methylierung war also bei diesem Präparat nur in geringem Grade eingetreten.

Diazomethan behandelt. Das aus der Chloroformlösung isolierte Reaktionsprodukt glich in allen seinen Eigenschaften dem verwendeten Hämin.

b) Der durch Chloroform nicht gelöste Teil des Roh-Hämins enthielt 0,8% CH_3 .

$$\begin{array}{l} 0,5450 \text{ Substanz (110}^\circ\text{)} : 0,0700 \text{ AgJ} \\ 0,3184 \quad \quad \quad = 1,74 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-n-AgNO}_3, ^1) \end{array}$$

in 4%iger Sodalösung war er entsprechend schon bei Z.-T. löslich, beim Betupfen eines mikroskopischen Präparates mit Methyläthylketon erschienen sehr kleine Nadelchen.

Durch die Einwirkung von Diazomethan wurde etwa die Hälfte einer verwendeten Probe in Monomethyl-Hämin übergeführt.

a) 0,5 g wurden in Chloroform suspendiert und mit 4 Molekeln Diazomethan behandelt, wodurch 0,22 g in Lösung gebracht wurden. Dieser Teil krystallisierte aus Methyläthylketon in kleinen Nadelchen, war in 4%iger Sodalösung bei Z.-T. unlöslich, löste sich aber beim Erhitzen auf. Der Methylgehalt betrug 2,41% (0,2013 g [110°] = 3,24 ccm $\frac{1}{10}$ -n-AgNO₃ nach Kirpal). Der in Chloroform unlöslich gebliebene Teil war nicht methyliert worden.

β) Bei Verwendung von Aceton an Stelle von Chloroform wurden durch dieselbe Diazomethanmenge von 0,5 0,28 g in das Lösungsmittel übergeführt unter Monomethylierung.

B. Produkt mit Äthylalkohol. 2,5 Liter Blutkörperbrei gaben 11,6 g β-Hämin mit 1,1% C_2H_5 (0,2836 Subst. [110°] : 0,0253 AgJ.). Das Präparat löste sich bereits bei Z.-T. in 4%iger Sodalösung.

a) In Chloroform waren nur 0,67 g vom Gesamtpräparat löslich.

b) Der in Chloroform nicht lösliche Teil krystallisierte aus Methyläthylketon in kleinen Nadelchen, er enthielt 0,93% C_2H_5 (0,2886 Subst. [110°] : 0,0198 C_2H_5 (CH_3)₃ N-J (Willstätter). Methyl war nicht vorhanden.

¹⁾ Kirpal. Monatshefte, Bd. 36, S. 853 (1915).

Die Analyse nach der Methode von Kirpal, nach der sich nur Methyl nachweisen lassen soll, ergab doch 0,55 % C_2H_5 .
(0,3605 Substanz [110°] = 0,69 ccm $\frac{1}{10}$ -n- $AgNO_3$).

Einwirkung von Diazomethan. 0,5 g wurden, in Chloroform suspendiert, mit 4 Molekeln Diazomethan behandelt, worauf in 12 Stunden allmähliche Lösung eintrat.¹⁾ Danach waren nur 0,04 g ungelöst; der lösliche Teil erwies sich bei Z.-T. als unlöslich in 4%iger Sodalösung, beim Erhitzen trat Lösung ein; aus Methyläthylketon krystallisierte er in kleinen Nadelchen.

Er enthielt 5,03 % Chlor und 2,24 % CH_3 .

(0,1810 Substanz [110°] : 0,0370 $AgCl$).

(0,3910 Subst. [110°] : 6,58 ccm $\frac{1}{10}$ -n- $AgNO_3$, wovon unter Berücksichtigung des Fehlers durch Aufnahme von Äthyl (s. o.) 0,72 ccm abgehen).

Danach war gerade ein Molekül Methyl zu dem vorhandenen Äthyl eingetreten.

II. Zur weiteren Beurteilung der Diazomethaneinwirkung diente ein Präparat von β -Monoäthyl-Brom-Hämin, das von Herrn Pröger aus 10 Litern Ochsenblut nach der Methode von Mörner bereitet worden war. Nach Eintragen der Bromwasserstoffsäure war die schwefelsaure Lösung 5 Minuten im gelinden Sieden erhalten worden, worauf man langsam erkalten ließ. Das mit Petroläther extrahierte Präparat krystallisierte in würfelförmlichen Formen, die durch Methyläthylketon in lange, spitze Nadeln von beträchtlicher Größe übergehen. In 5%iger Sodalösung ist es bei Z.-T. unlöslich, dagegen löslich in $\frac{1}{2}$ -n-Natronlauge. Die Analyse bestätigte das Vorliegen eines Monoäthyl-Brom-Hämins.

0,1594 Substanz (90°) : 0,3473 CO_2 , 0,0784 H_2O und 0,0180 Fe_2O_3 .

0,1418 " : 0,0358 $AgBr$ (Carius),

0,223 " : 0,0794 AgJ (Zeisel)²⁾,

0,1386 " : 0,0470 AgJ (),

0,3891 " : 0,121 $(CH_3)_2C_2H_5NJ$ (Willstätter) kein Methyl.

¹⁾ Bei kürzerer Einwirkung sind die Ausbeuten an dem in Chloroform löslichen Teil bedeutend schlechter.

²⁾ Diese Analysen verdanke ich Herrn Dipl.-Ing. Otto Geering.

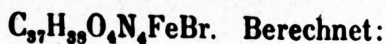


Ber.:	59,67%	C	4,98%	H	7,74%	Fe	11,05%	Br	4,0%	C_2H_5
Gef.:	59,42%		5,47%		7,90%		10,75%		4,38%	
									4,17%	
									4,19%	

Zur Behandlung mit Diazomethan wurde 1 g in 45 ccm Chloroform suspendiert und der Einwirkung des aus 2,5 ccm Nitrosomethylurethan entwickelten Gases 12 Stunden überlassen. Nach Abdestillation des Chloroforms erwies sich der Rückstand in Methyläthylketon zum größten Teil löslich, das Filtrat wurde stark konzentriert, wonach sich ein krystalinischer Absatz einstellte. Unter dem Mikroskop waren würfelförmige Formen erkennbar, zumeist bildeten sie kuglige Aggregate. 96%ige Essigsäure löste in der Hitze auf, beim Erkalten fand aber keine Krystallisation statt.

Von 5%iger Sodalösung wurde das Präparat erst beim Erhitzen spurenweise angegriffen, wonach ein dialkyliertes β -Hämin vorliegen mußte, was die Analyse bestätigte.

0,1819	Substanz	(90°)	:	0,4026	CO_2 ,	0,0765	H_2O	und	0,0180	Fe_2O_3
0,1945	"		:	0,4279	CO_2 ,	0,0930	H_2O	"	0,0210	Fe_2O_3
0,1546	"	(90°)	:	10,6	ccm N	bei	22°	und	743	B.
0,2403	"	(i. V.)	:	0,0600	AgBr					
0,2364	"		:	0,0632	$(\text{CH}_3)_3\text{C}_2\text{H}_5\text{NJ}$	und	0,0752	$(\text{CH}_3)_4\text{NJ}^1$		



60,16%	C	5,15%	H	7,59%	Fe	7,59%	N	10,84%	Br	2,03%	CH_3	3,93%	C_2H_5
--------	---	-------	---	-------	----	-------	---	--------	----	-------	---------------	-------	------------------------

Gefunden:

60,36%	C	4,67%	H	6,93%	Fe								
60,00%	C	5,3%	H	7,56%	Fe	7,7%	N	10,63%	Br	2,2%	CH_3	3,7%	C_2H_5

Hiernach ist das β -Monoäthyl-Brom-Hämin durch die Einwirkung des Diazomethans in den Methyl-Äthylester des Brom-Hämins übergeführt worden.

III. Einwirkung von Diazomethan auf α -Hämine (bearbeitet von Herrn Dipl. Ing. O. Kusch).

A. Chlor-Hämin.

Das Präparat enthält 5,35% Chlor und ist in 4%iger Sodalösung bei Z.-T. löslich.

(0,1476 Substanz [110°] : 0,0320 AgCl).

¹⁾ Diese Analysen verdanke ich Herrn Dipl. Ing. Otto Geering.

α) Nach der Einwirkung von Diazomethan auf eine Suspension von 1 g α-Chlor-Hämin in 70 ccm Chloroform waren 0,27 g in Lösung gegangen. Dieser Teil ist jetzt unlöslich bei Z.-T. in 4%iger Sodalösung, beim Erhitzen löst er sich; er enthält 2,5% CH_3 und 4,97% Chlor.

0,2166 Substanz (110°) : 0,0866 AgJ. 0,1788 Substanz : 0,0360 AgCl.

In geringer Ausbeute hat sich also das Monomethylhämin gebildet.

β) Bei Verwendung einer Suspension in Aceton war die Ausbeute noch schlechter: von 1 g waren nur 0,06 g in Aceton löslich geworden und nach den Eigenschaften monomethyliert.

Der in Aceton unlöslich gebliebene Teil war schwach methyliert worden, eine Wegnahme von Chlor war nicht eingetreten.

0,1750 Substanz (110°) : 0,0220 AgJ = 0,8 % CH_3
 0,2080 „ : 0,0460 AgCl = 5,43 % Cl.

α-De(hydrochlorid)-Hämin.

Die Wegnahme des Chlors durch Anilin war bis auf 0,8% geglückt.

(0,1734 Substanz [110°] : 0,0056 AgCl).

Nach der Einwirkung von Diazomethan auf eine Suspension von 1 g in 100 ccm Chloroform waren 0,22 g löslich geworden und in das Monomethylderivat übergeführt worden. Die Herausnahme des Chlors hat also keinen Einfluß auf den Verlauf der Veresterung gehabt.

B. α-Brom-Hämin.

Das Präparat enthält 11,23% Brom und ist in 4%iger Sodalösung löslich.

0,1638 Substanz (110°) = 0,0436 AgBr.

α) Nach der Einwirkung von Diazomethan auf eine Suspension von 1 g in 55 ccm Chloroform sind nur 0,05 g löslich und monomethyliert.

Der Bromgehalt des unlöslich gebliebenen Teils hat sich nicht verändert.

0,1608 Substanz (110°) : 0,0422 AgBr = 11,16% Br.

β) Bei Verwendung von Aceton ergab sich kein besseres Resultat: von 1 g gingen nur 0,06 g in Lösung, die aus Methyl-

äthylketon sehr schön krystallisierten und zwar in Form gekreuzter Spindeln. Nur dieser kleine Teil war, nach dem Verhalten gegen 4%ige Sodalösung zu schließen, monomethyliert worden.

α -De-(hydrobromid)-Hämin.

Die Wegnahme des Broms war bis auf 1,11% erfolgt.

0,1884 Substanz : 0,0050 AgBr.

α) Nach der Einwirkung von Diazomethan auf eine Suspension von 1 g in 100 ccm Chloroform waren 0,2 g in Chloroform löslich geworden, doch erwies sich dieses Präparat als nicht völlig monomethyliert, da es in 4%iger Sodalösung bei Z.-T. ein wenig löslich war.

β) Bei einem 2. Versuch fanden sich nur 0,04 g in der Chloroformlösung, die nach dem Verhalten gegen Soda monomethyliert worden waren.
