

Arch. Pharm. (Weinheim) 313, 180–184 (1980)

## Untersuchungen zum Coffeinnachweis mit Acetylaceton und 4-Dimethylaminobenzaldehyd

Klaus Rehse\* und Ute Siemann

Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 2 + 4, 1000 Berlin 33  
Eingegangen am 10. Mai 1979

Der Mechanismus des Coffeinnachweises von *Wachsmuth* und *van Koeckhoven*<sup>1)</sup> wird untersucht. Für den bei der Reaktion gebildeten blauen Farbstoff wird die Struktur eines 4*H*-Imidazoliumsalzes **7** vorgeschlagen.

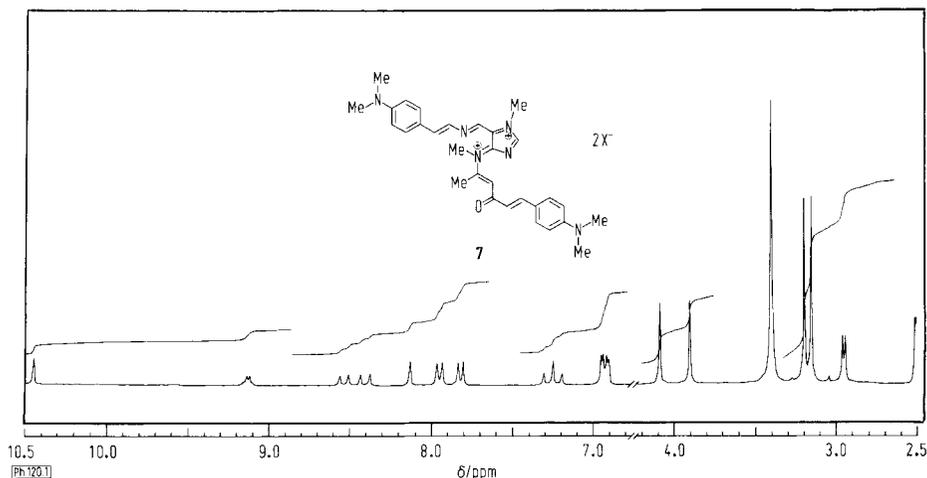
### Mechanistic Studies on the Identification of Caffeine with Acetylacetone and 4-Dimethylaminobenzaldehyde

The mechanism of the *Wachsmuth-van Koeckhoven*<sup>1)</sup> reaction of caffeine is investigated. The blue compound formed with acetylacetone and 4-dimethylaminobenzaldehyde is suggested to be the 4*H*-imidazolium salt **7**.

Der von *Wachsmuth* und *van Koeckhoven*<sup>1)</sup> gefundene Coffeinnachweis mit Hilfe von Acetylaceton und 4-Dimethylaminobenzaldehyd ist im Gegensatz zu anderen Nachweisreaktionen für Coffein spezifisch. Theobromin und Theophyllin geben die Reaktion nicht. Darüber hinaus eignet sich die Reaktion auch zur quantitativen Bestimmung von Coffein. Sie wurde von *Waarst*<sup>2)</sup> zur Bestimmung von Coffein in Tabletten benutzt und schließlich von *Kakáč*<sup>3)</sup> in ihrer Durchführung weiter verbessert. Da über den Reaktionsmechanismus bisher nichts bekannt ist, haben wir die Reaktion in dieser Hinsicht näher untersucht.

Im Verlauf der Farbreaktion wird zuerst Coffein mit Acetylaceton in stark alkalischer Lösung bei 80° umgesetzt. Nach dem Abkühlen wird durch Zugabe einer stark salzsauren Lösung 4-Dimethylaminobenzaldehyd eine tiefe Blaufärbung hervorgerufen. Zunächst konnten wir zeigen, daß der erste Reaktionsschritt in der Hydrolyse des Coffeins zum Coffeidin besteht. Setzt man Coffeidin sogleich mit Acetylaceton und 4-Dimethylaminobenzaldehyd in Salzsäure um, so erhält man die gleiche Färbung wie in der ursprünglichen Ausführung der Farbreaktion. Wir haben daher für unsere weiteren Experimente stets nur noch reines Coffeidin<sup>4)</sup> eingesetzt. Die Isolierung des Farbstoffs gelingt, wenn die Reaktion anstelle von Salzsäure mit Perchlorsäure oder Iodwasserstoffsäure in methanolischer oder ethanolischer Lösung durchgeführt wird. Ein Vergleich der Elektronenspektren zeigt, daß durch diese Veränderung der Reaktionsbedingungen der Chromophor nicht beeinflußt wird: Die langwelligste Absorption unter „*Wachsmuth*“-Bedingungen bleibt

613 nm. Da die Aufnahme der Protonen-Resonanzspektren bei 60 bzw. 100 MHz nicht aussagekräftig genug war, mußte zur näheren Beschreibung der Struktur das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei 270 MHz herangezogen werden. (s. Abb. 1).



**Abb. 1:** 270-MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **7** in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}^*$ )

Man erkennt zunächst, daß das Farbstoffmolekül 36 Protonen enthält, von denen fünfzehn im olefinischen bzw. aromatischen Bereich des Spektrums gefunden werden. Weiter sieht man, daß das Molekül **7** Methylgruppen enthält, von denen vier ( $\delta = 3.20$  bzw.  $3.15$  ppm) zweifellos aus dem 4-Dimethylaminobenzaldehyd stammen, so daß zwei dieser Moleküle pro Molekül Farbstoff reagiert haben müssen. Die korrespondierenden aromatischen Protonen werden bei  $7.95$  und  $7.82$  bzw.  $6.94$  und  $6.93$  ppm gefunden, wie die jeweiligen Kopplungskonstanten ( $J = 9$  Hz) zeigen. Ferner enthält das Molekül zwei *E*-substituierte Doppelbindungen, wie die Kopplungskonstanten  $J = 14$  Hz ( $8.54$  und  $7.23$  ppm) bzw.  $15$  Hz ( $8.41$  und  $7.29$  ppm) zeigen. Diese Doppelbindungen könnten durch Kondensation der Aldehydgruppe mit Methylgruppen des Coffeidsins oder Acetylacetons gebildet worden sein. Durch Entkopplung konnte gezeigt werden, daß die Signale bei  $9.13$  ppm und  $2.96$  ppm ( $J = 5$  Hz) zu einem *E*-Propenylstrukturelement gehören, welches nur aus einem Acetylacetonelement stammen kann. Das Signal bei  $10.46$  ppm deutet auf den Erhalt des Imidazolringes hin. Damit müssen noch ein extrem entschirmtes olefinisches Proton ( $\delta = 8.14$  ppm (s)) und zwei Methylgruppen ( $4.09$  bzw.  $3.90$  ppm) zugeordnet werden.

\* Herrn Dr. S. Schönewis, Institut für Organische Chemie der TU Berlin, danken wir für die Aufnahme dieses Spektrums.

Aus der Elementaranalyse des Perchlorats ergibt sich unter Berücksichtigung der Protonenzahl des NMR-Spektrums als Summenformel  $C_{30}H_{36}Cl_2N_6O_9$  oder ein Vielfaches davon, woraus die Struktur eines Diperchlorats abzuleiten ist. Für das Iodid gilt entsprechendes. Da aus dem Doppelsalz keine freie Base gebildet werden kann, ist das Vorliegen eines Ammonium- bzw. Iminiumsalses wahrscheinlich. Während für das Perchlorat erwartungsgemäß kein Massenspektrum erhalten werden kann, zeigt das Diiodid einen Molpeak bei  $m/e = 466$  für den durch Präzisionsmassebestimmung die Summenformel  $C_{28}H_{30}N_6O$  ermittelt wurde\*), die mit der obigen Summenformel nach Abspaltung von 2 mol Methyljodid korrespondiert. Das abgespaltene Methyljodid bildet bei  $m/e = 142$  den Basispeak des Spektrums. Aus diesen Befunden kann mithin schlüssig gefolgert werden, daß der Farbstoff aus 1 mol Coffeidin, 1 mol Acetylaceton und 2 mol 4-Dimethylaminobenzaldehyd gebildet wird und die Struktur eines di-Methyliminiumsalses haben muß. Da die Substanz ausgeprägte Solvatochromie zeigt, sollte sie als Strukturelement ein Merocyaninsystem enthalten. Die im IR-Spektrum gefundene Bande bei  $1670\text{ cm}^{-1}$  wäre einem  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Keton zuzuordnen. Die Absorption bei  $1640\text{ cm}^{-1}$  kann als Iminbande interpretiert werden. Wir postulieren aus der Summe der Befunde für den Farbstoff die in Abb. 2 wiedergegebene Struktur eine 4*H*-Imidazoliumsalzes **7**, für dessen Bildung der in Abb. 2 vorgeschlagene Mechanismus plausibel wäre.

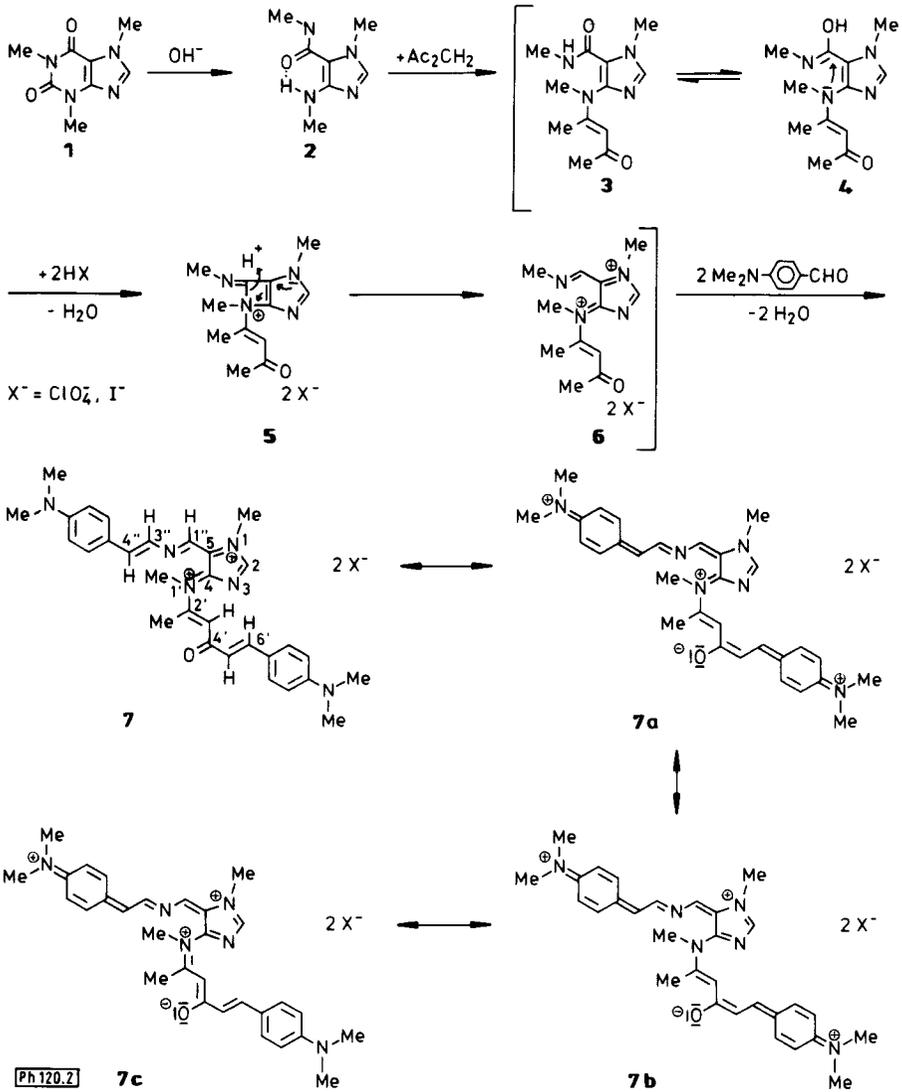
Das Zwischenprodukt **6** macht die leichte Kondensierbarkeit der endständigen Methylgruppen mit 4-Dimethylaminobenzaldehyd verständlich. Gleichzeitig wird deutlich, daß die Reaktion nur bei Coffein zum Erfolg führen kann. Das dem Coffeidin analoge Theophyllidin, das bei alkalischer Hydrolyse von Theophyllin entsteht, reagiert einerseits mit elektrophilen Reaktionspartnern bevorzugt im Imidazolring wie z. B. die Theophyllidinreaktion zeigt. Andererseits ist beim Theophyllidin wegen der fehlenden Methylgruppe in 1-Position des Imidazolringes die Bildung des reaktiven Bis-Iminiumsalses **6** nicht möglich. Theobromin hingegen ist gegen alkalische Hydrolyse relativ stabil und wird unter drastischen Bedingungen unter  $CO_2$ - und  $NH_3$ -Abspaltung weitgehend zerlegt<sup>5-7</sup>). Eine Interferenz mit dem Coffeinnachweis ist deshalb ebenfalls nicht zu erwarten.

Die mesomere Grenzstruktur **7a** macht deutlich, daß für die Farbigkeit im wesentlichen ein Cyanin- und ein Merocyaninsystem verantwortlich sind. Jedoch sind eine Reihe weiterer Teilsysteme formulierbar (vgl. **7b**, **7c**), welche die ausgeprägte Strukturierung des Elektronenspektrums von **7** verständlich machen. Die weitgehende Delokalisation der  $\pi$ -Elektronen kommt auch in dem großen molaren Extinktionskoeffizienten der langwelligsten Absorption zum Ausdruck ( $\epsilon_{721} = 58000$  in Methanol).

Die endgültige Sicherung der Struktur von **7** durch Röntgenstrukturanalyse gelang nicht, da keine geeigneten Einkristalle erhalten werden konnten.

Herrn Jürgen Lindemann danken wir für die wertvolle technische Hilfe.

\*) Herrn Dr. K. Holzmann, Institut für Organische Chemie der FU Berlin, danken wir für die Durchführung der Messungen.



**Abb. 2:** Reaktionsverlauf der Wachsmuth-van-Koeckhofen-Reaktion

## Experimenteller Teil

5-[4-(4-Dimethylaminophenyl)-2-azabuta-1,3-dienyl]-4-[6-(4-dimethylaminophenyl)-1,2-dimethyl-4-oxo-1-azahexa-2,5-dienylidanium]-1-methyl-4H-imidazolium-diperchlorat und -diiodid (**7**)

3.0 g (18 mmol) Coffeidin<sup>4</sup>) und 6.0 g (60 mmol) Acetylaceton werden in 15 ml MeOH gegeben. Dann werden 7.5 g (50 mmol) 4-Dimethylaminobenzaldehyd in 15 ml MeOH sowie 2 ml 70 proz. HClO<sub>4</sub> hinzugefügt und 6 h am Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird der gebildete Kristallkuchen unter Zugabe von EtOH zerkleinert und intensiv mit EtOH gewaschen. Zur Herstellung des Iodids werden 2 ml 67 proz. HI verwendet.

Perchlorat: Braune Kristalle, Schmp. 276–279° (Zers.). Ausb.: 25 % d. Th. – C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub> (695.6). Ber. 51.8 H 5.21 Cl 10.2 N 12.1 O 20.7 Gef. C 51.1 H 5.31 Cl 10.2 N 12.1 O 21.2. – IR (KBr): 1670, 1640, 1610, 1570, 1500, 1460, 1440, 1380, 1320, 1300, 1280, 1225, 1150, 1100, 1055, 995, 975, 940, 855, 840, 820, 750, 730 cm<sup>-1</sup>. – 270-MHz-<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO): δ (ppm) = 10.46 (s, 1H, H-2), 9.13 (q, J = 5 Hz, 1H, H-4'), 8.54 (d, J = 14 Hz, 1H, H-4'' oder H-7'), 8.41 (d, J = 15 Hz, 1H, H-4'' oder H-7'), 8.14 (s, 1H, H-1''), 7.95 (d, J = 9 Hz, 2H, arom.), 7.82 (d, J = 9 Hz, 2H, arom.), 7.29 (d, J = 15 Hz, 1H, H-3'' oder H-6'), 7.23 (d, J = 14 Hz, 1H, H-3'' oder H-6'), 6.94 (d, J = 9 Hz, 2H, arom.), 6.93 (d, J = 9 Hz, 2H, arom.), 4.09 (s, 3H, =N<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 3.90 (s, 3H, =N<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 3.20 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.15 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.96 (d, J = 5 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>-3').

Elektronenspektrum (MeOH): λ<sub>max</sub> (log ε) = 721 (4.8), 521 (4.6), 434 (4.3), 381 (4.2), 300 (4.2), 253 (4.3), 204 (4.7) nm. Wasser: 712 (4.6). Acetonitril: 715 (4.8). Wasser/Methanol (1 + 1): 734 (4.3) 0.1–3 N-HCl: 636 (4.7–3.7). 6 N-HCl: 432 (4.6), Wachsmuth-Lösung<sup>1)</sup>: 613 nm.

Iodid: Braune Kristalle, Schmp. 265–271° (Zers.) Ausb.: 25 % d. Th. – C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>I<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O (750.5). IR- und NMR-Spektren sind mit denen des Perchlorats identisch. – MS (70 eV): m/e = 466 (3%, 7–2 MeI = M<sup>+</sup>, Gef. 466.2455, C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O, Δm = 2.5mu), 451 (1.5, M-Me, 451.2259, C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O, 1.3), 434 (1.5), 420 (3, M-C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N, 420.1813, C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O, 1.1), 406 (1.5), 392 (1.5), 335 (2), 289 (2), 194 (17), 142 (100, 141.9277, MeI, 0.1), 127 (39, 126.9044, I, 0.1).

## Literatur

- 1 H. Wachsmuth und L. van Koeckhoven, J. Pharm. Belg. 14, 79 (1959).
- 2 V. Waarst, Arch. Pharm. Chemi 73, 555 (1966); C. A. 65, 15158 g (1966).
- 3 J. Vachek und B. Kakáč, Cesk. Farm. 23, 280 (1974).
- 4 H. Biltz und H. Rakett, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 61, 1409 (1921).
- 5 E. Schmidt und H. Pressler, Justus Liebig's Ann. Chem. 217, 303 (1883).
- 6 E. Fischer, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 31, 3269 (1898).
- 7 J. Tafel und R. Mayer, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 41, 2555 (1908).

[Ph 120]