

dung von Interesse. Dieser Bereich ist in Abb. 3 dargestellt. Signifikant und gut reproduzierbar sind die Unterschiede der Carbonyl-Banden der vier Modifikationen (Mod I 1698, Mod. II 1688, Mod. III 1708 und Mod. IV 1731 cm^{-1}), so daß diese zur Identifizierung herangezogen werden können.

Die Untersuchungen wurden mit dem Perkin-Elmer Grating Spectrophotometer 257 unter Anwendung der Nujolmethode durchgeführt.

Anschrift: Prof.Dr. M. Kuhnert-Brandstätter, A-6020 Innsbruck, Peter-Mayr-Str. 1 [Ph 338]

K.-A. Kovar und U. Schwiecker

Zur Kenntnis der Canbäck-Reaktion*)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen
(Eingegangen am 5. Juli 1973)

Die in verschiedenen Pharmakopöen aufgenommene Identitätsreaktion auf Hydromorphon (Dilaudid®), Hydrocodon (Dicodid®) und Oxycodon (Eukodal®) nach Canbäck mit m-Dinitrobenzol und Laugen wird am Beispiel des Oxycodons (4) geklärt. Die Farbreaktion ist auf die rote Zimmermann-Verbindung 7 zurückzuführen, welche aus 6 mit Laugen gebildet wird. 6 erhält man über das Enamin 5 mit 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol.

Concerning the Canbäck Reaction

The identification of hydromorphone, hydrocodone and oxycodone with dinitrobenzene and alkali by Canbäck recorded in different pharmacopeias is clarified by the way of oxycodone (4) via enamine 5. The colour reaction depends on the red Zimmermann compound 7 which is formed by 6 and alkali. 6 is prepared from the enamine 5 and 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene.

Farbreaktionen von Polynitroaromaten mit α -Methyl bzw. α -Methylenketoverbindungen und Alkali werden sehr oft zur Identifizierung von Arzneistoffen herangezogen, so z.B. in der Zimmermann-Reaktion auf Ketosteroide¹⁾ und in den Reaktionen nach Raymond²⁾, Kedde³⁾ oder Baljet⁴⁾ auf Cardenolide. Viele Pharmakopöen⁵⁾ be-

*) Teilauszug aus ⁷⁾ und ¹³⁾.

1 W. Zimmermann, Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 233, 257 (1935) und 245, 47 (1937).

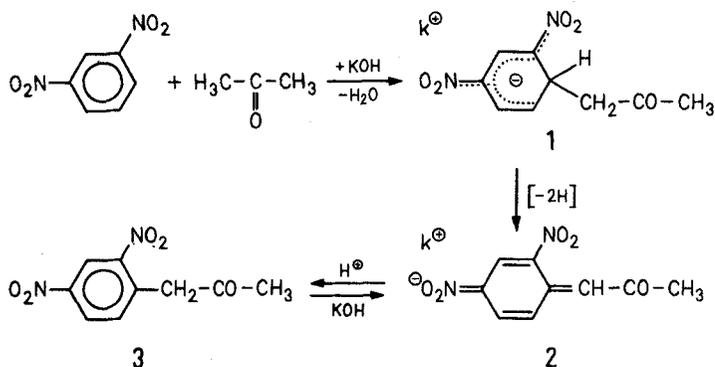
2 W.D. Raymond, Analyst 63, 478 (1938); 64, 113 (1939).

3 D.L. Kedde, Pharmac.Weekbl. 82, 741 (1947).

4 H. Baljet, Schweiz.Apotheker-Ztg. 56, 71, 84 (1918).

5 z.B. DAB 7 - BRD, DAB 7 - DDR, Austr. 1960, PI 1960, USP 1965.

dienen sich einer Vorschrift nach Canbäck⁶⁾ zum Nachweis von Hydromorphon (Dilaudid®), Hydrocodon (Dicodid®) und Oxycodon (Eukodal®): Wenige Milligramm der zu untersuchenden Substanz werden mit einem Überschuß an *m*-Dinitrobenzol (Zimmermann-Bedingung⁷⁾) in wäßrig-alkoholischer Lösung mit 3 n NaOH umgesetzt. Nach wenigen Minuten tritt eine rotviolette Färbung auf. Diese ins DAB 7 – BRD aufgenommene Identitätsreaktion ergibt eine unbeständige Farbe, die sich zur elektronen-spektroskopischen Messung wenig eignet. Deshalb wurden zunächst die optimalen Bedingungen an Hand der einfacheren Umsetzung von *m*-Dinitrobenzol mit Aceton und Laugen geklärt. Bei dieser Reaktion wird der intermediäre Meisenheimer-Komplex **1** durch überschüssiges Dinitrobenzol zur Zimmermann-Verbindung **2** oxidiert⁷⁾⁸⁾⁹⁾. Durch Ansäuern erhält man das Substitutionsprodukt **3**.



Im Unterschied zu **1** ($\lambda_{\text{max}}^{\text{Aceton}} \sim 580 \text{ nm}^9)$) absorbiert **2** in Aceton bei 484 nm ($1 \text{ g } e = 3,77$). In alkoholischer KOH wurde die höchste Absorption von **3** in 0,5 n Lösung bei sofortiger Messung registriert¹⁴⁾, während jedoch die Färbung von Dinitrobenzol und Aceton in 0,25 n alkoholischer Lösung stabiler ist. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden Hydromorphon, Hydrocodon und Oxycodon in etwa 0,25 n äthanol. KOH mit einem zwanzigfachen Überschuß an *m*-Dinitrobenzol in einer Konzentration von $0,5 \cdot 10^{-3} \text{ Mol/l}$ aufgenommen. Die Meßlösung von Oxycodon erwies sich dabei mit einem Maximum um 520 nm am stabilsten (Abb. 2).

Versuche, den Farbstoff aus einem konzentrierten Ansatz modifiziert nach Nambara und Mitarb.¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ zu isolieren, schlugen wegen der Instabilität des Farbpro-

6 T. Canbäck, *Pharmazie* **46**, 802 (1947).

7 K.-A. Kovar, Habilitationsschrift Tübingen 1972.

8 J. Foster und R.K. Mackie, *Tetrahedron* (London) **18**, 1131 (1962).

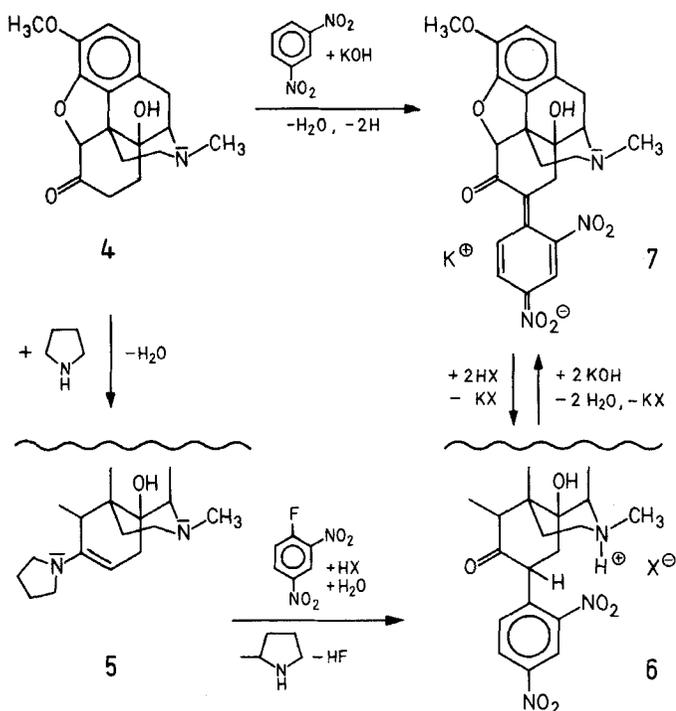
9 M. Kimura, M. Kawata, M. Nakadate, N. Obi und M. Kawazoe, *Chem. pharm. Bull.* (Tokyo) **16**, 634 (1968).

10 T. Nambara und M. Kato, *Chem. and Ind.* **1967**, 1090.

11 T. Nambara, M. Kato, R. Imanari und T. Kudo, *Chem. pharm. Bull.* (Tokyo) **16**, 126 (1968).

12 M. Kato, M. Ohnishi und T. Nambara, *Chem. pharm. Bull.* (Tokyo) **16**, 2398 (1968).

duktes fehl. Deshalb wurde Oxycodon (4) mit Pyrrolidin in Methanol zum farblosen, kristallinen Enamin 5 umgesetzt, das bei 199° schmilzt und durch IR, NMR, MS und Elementaranalyse charakterisiert ist¹³⁾. Die anschließende Umsetzung mit 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol gab unbefriedigende Ausbeuten, deshalb wurde das Enamin 5 mit 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol im alkalischen Milieu zur Reaktion gebracht und mit verd. HCl hydrolysiert. Durch Ausschütteln der Hydrolyselösung mit Methylenchlorid bei unterschiedlichem pH wurde ein Teil der Verunreinigung entfernt. Der Rückstand der Methylenchloridfraktionen mußte anschließend über eine Kieselgelsäule mit Chloroform + Diäthylamin gereinigt werden. Die violette Fraktion des Farbstoffes wurde i. Vak. zur Trockne eingeengt und ins gelbe Hydrochlorid bzw. Perchlorat überführt. Das IR-Spektrum zeigte im Gegensatz zum Enamin wieder eine Carbonylbande bei 1735/cm und zusätzliche aromatische Nitrogruppen bei 1540 und 1350/cm.



Im NMR-Spektrum des Perchlorates (Abb. 1) findet man das bekannte ABX-Spektrum eines 1-substituierten m-Dinitrobenzols mit den beiden Dubletts $\delta = 8,69$ und $7,60$ ppm (H_a, H_d ; $J_m = 2,5$ Hz und $J_o = 9$ Hz) und dem Quadruplett bei $\delta = 8,35$

ppm (H_c , $J = 9$ und $2,5$ Hz). Daneben erscheint das für die Strukturaufklärung wichtige Signal des e-Protons in Nachbarstellung zum Dinitrophenylring als schlecht aufgelöstes Multiplett bei $\delta = 4,0$ ppm¹²⁾. Alle anderen Signale entsprechen den chemischen Verschiebungen im Oxycodon, insbesondere H_y ($\delta = 5,21$ ppm). Für die durch das NMR belegte Struktur **6** spricht weiterhin der Molekülpeak $m/e = 481$ und das Fragmentierungsschema, welches sowohl die für Oxycodon¹⁴⁾ als auch für 2-(2,4-Dinitrophenyl)-cyclohexanon¹³⁾ charakteristischen Peaks aufweist. **6** setzt sich im alkalischen Milieu zum Zimmermann-Produkt **7** um.

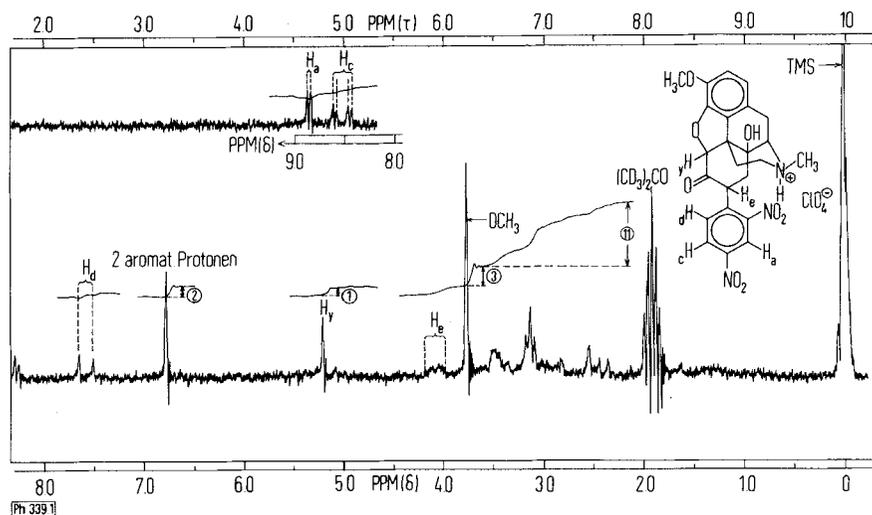


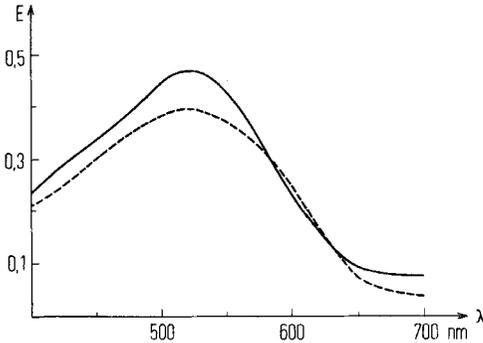
Abb. 1: 60 MHz-NMR-Spektrum von **6** als Perchlorat aufgenommen in Aceton- d_6 . TMS $\delta = 0,00$ ppm. Sweep offset = 200 Hz.

Im Elektronenspektrum (Abb. 2) wird der fast übereinstimmende Kurvenverlauf von **7** mit der Reaktionslösung von Oxycodon in 20fachem Überschuß an *m*-Dinitrobenzol in 0,25 n äthanol. KOH festgestellt. Erwartungsgemäß ist die Zimmermann-Verbindung **7** auch im DC (Abb. 3) der ursprünglichen Reaktionslösung als rotvioletter Fleck (R_f 0,45) aufzufinden.

Die Identitätsreaktion des Oxycodons nach Canbäck ist folglich auf die rotviolette Zimmermann-Verbindung **7** zurückzuführen, die man über das Enamin **5** und über 7,8-Dihydro-7(-2,4-dinitrophenyl)-14-hydroxycodoin-6-on (**6**) erhält. Für Hydromor-

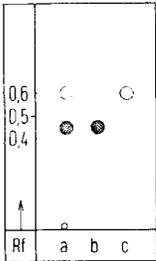
14 H. Audier, M. Fetizon, D. Ginsburg, A. Mandelbaum und Th. Rüll, Tetrahedron Letters (London) 1965, 13.

phon ist eine analoge Struktur über das Elektronen-Spektrum gesichert, desgleichen auch für Hydrocodon, welches das gleiche Chromophor besitzt.



Ph 339 2

Abb. 2: Elektronenspektrenvergleich von 7 (ausgezogene Kurve) mit der Reaktionslösung von Oxycodon in 20fachem Überschuß an m-Dinitrobenzol (unterbrochene Kurve) gemessen in 0,5–0,25 n äthanol. KOH ($c = 0,5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l)



Ph 339 3

Abb. 3: DC der Reaktionslösung von Oxycodon, m-Dinitrobenzol und KOH auf Kieselgel F 254 „Merck“-Fertigplatten, Fließmittel: $\text{CHCl}_3 + \text{Diäthylamin} = 80 + 20$
 a) Reaktionslösung Oxycodon
 b) Zimmermann-Verbindung
 c) m-Dinitrobenzol

Beschreibung der Versuche

Schmp.: unkorrigiert auf dem Kofler-Schmelzpunktmikroskop. Elektronenspektren: Beckman DB GT. IR-Spektren: Beckman Spektrophotometer IR 8 in KBr oder CHCl_3 ($\hat{\nu}/\text{cm}$). NMR-Spektren: Varian A 60-Gerät ($\delta = 0,00$ ppm in Bezug auf internes TMS) T = Triplett, M = Multiplett. Massenspektren: AE I, Massenspektrometer Typ MS 9 (m/e).

1-Acetyl-2,4-dinitro-cyclohexadienat-kalium-Komplex (1) und *Kaliumsalz des 2,4-Dinitrophenylacetons* (2) nach Kimura⁹⁾. *2,4-Dinitrophenylacetone* (3) nach Borsche¹⁵⁾.

Pyrrolidinyl-enamin 5 aus Oxycodon: 1,0 g Oxycodon-Base wird unter N_2 in 10 ml wasserfreiem Pyrrolidin bei 70° gelöst. Nach Zusatz von 15 ml Methanol scheiden sich beim Erkalten farblose

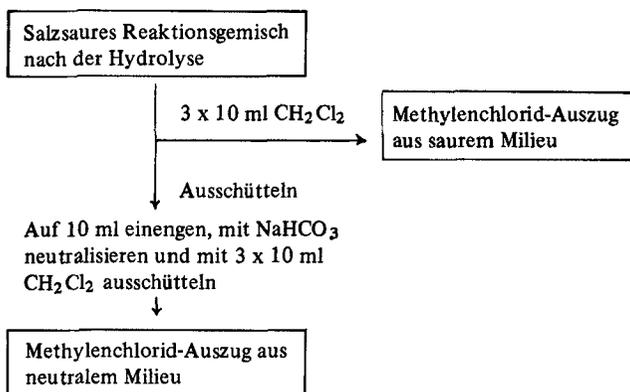
15 W. Borsche, Ber.dtsch.chem.Ges. 42, 601 (1909).

Kristalle ab, die mit Methanol pyrrolidinfrei gewaschen und über P_2O_5 getrocknet werden. Ausbeute: 800 mg (= 60 % d.Th.), Schmp. 199°, farblose Kristalle.

$C_{22}H_{28}N_2O_3$ (368,4) Ber.: C 71,72; H 7,66; N 7,61. Gef.: C 71,85; H 7,73; N 7,57. IR: 3040, 1630 (Enamin¹⁶) NMR: 4,38 T (Enaminproton¹⁶), J = 4 Hz) 2,90 T und 2,4–1,5 M (Pyrrolidinprotonen).

7,8-Dihydro-7-(2,4-dinitrophenyl)-14-hydroxycodein-6-on (6) aus 5:

740 mg (2 mMol) des Enamins 5 werden in eine Lösung von 372 mg (2 mMol) 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol und 250 mg (2,5 mMol) Triäthylamin in 10 ml absol. CH_2Cl_2 unter N_2 gegeben. Die Lösung färbt sich dabei dunkelrot. Nach 24 Std. engt man die Reaktionslösung i.Vak. fast bis zur Trockne ein und hydrolysiert mit 25 ml 3 n HCl unter Rückfluß. Das Hydrolysegemisch ist hellgelb gefärbt mit einem roten Bodensatz, der sich auch bei konz. HCl-Behandlung nicht verändert. Die Reinigung geschieht nach folgendem Schema:



Der Methylenchlorid-Auszug aus saurem Milieu enthält neben dem Farbstoff noch größere Mengen an Verunreinigungen. Den Methylenchlorid-Auszug aus neutralem Milieu reinigt man über eine Kieselgel-Säule (1,5 m x 2 cm ϕ , 170 g Kieselgel 0,2–0,5 mm) mit $CHCl_3$ + Diäthylamin = 4 + 1 als Elutionsmittel. Das violette Eluat wird sofort i.Vak. zur Trockne eingengt.

Hydrochlorid: 50 mg des violetten Rückstandes werden in 3 ml 3proz. salzsaurem Methanol aufgenommen und eingengt. **Perchlorat:** 160 mg des violetten Rückstandes werden in 10 ml Methanol und 5 ml 60proz. $HClO_4$ gelöst und mit Äther das gelbe Perchlorat fraktioniert ausgefällt. $\lambda_{max}^{0,5\% \text{ Äthanol}}$ KOH: 520 nm ($\lg \epsilon = 3,77$). MS: 481, 315, 230, 201, 115, 70. *Diäthylaminsalz:*

$C_{28}H_{34}N_4O_8$ (554,6) Ber.: C 60,64; H 6,31; N 10,10; O 23,07. Gef.: C 60,55; H 6,28; N 9,91; O 22,69.

16 G. Stork, A. Brizolara, H. Landesman, J. Szmuskovicz und R. Terell, J.Amer.chem.Soc. 85, 207 (1963).