

## 84. Die Autoxydation des Apomorphins<sup>1)</sup>

von **Horst H. A. Linde** und **Mohamed S. Ragab**

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

(7. III. 68)

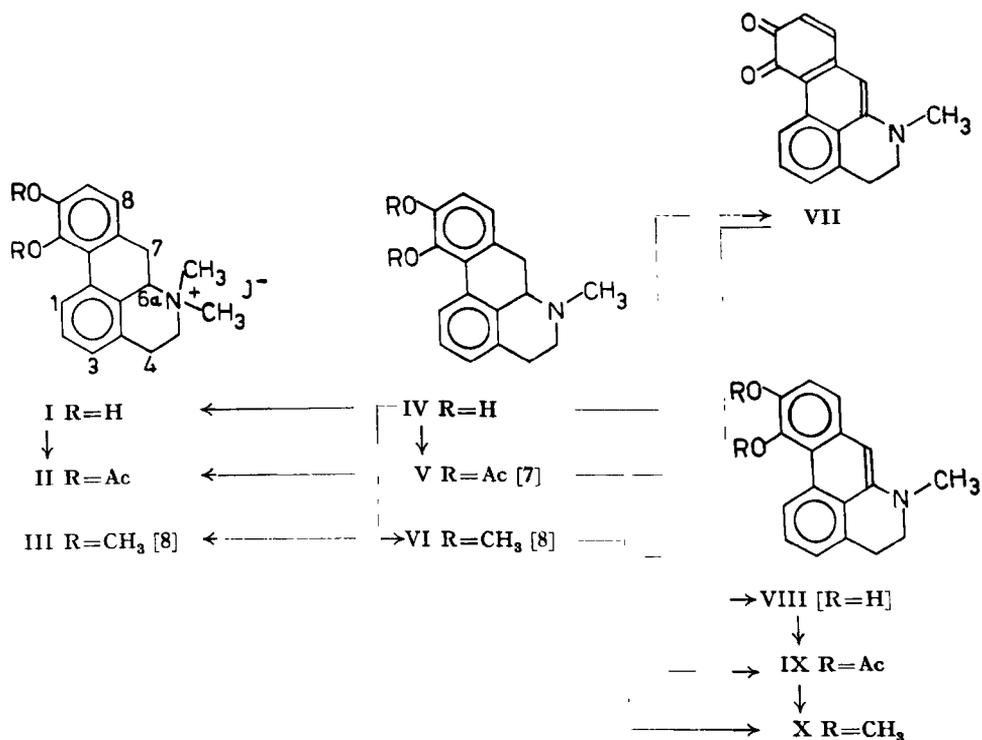
*Zusammenfassung.* Die Struktur des Autoxydationsproduktes VII des Apomorphins wird ermittelt.

Apomorphin (IV) erleidet in wässriger Lösung durch Luft eine oxydative Zersetzung, die mit Verfärbung der Lösung einhergeht und durch erhöhte Temperatur, Licht und  $\text{pH} \geq 7$  beschleunigt wird [1]–[4].

PARRAK *et al.* [2] fanden, dass sich Lösungen von IV an der Luft grün und später satt blaugrün ( $\lambda$  max 644 nm) färben, und dass durch diese Oxydation ein Produkt von *o*-chinoidem Charakter resultiert. KAUL *et al.* [5] arbeiteten eine Bestimmungsmethode für Apomorphin durch Oxydation mit  $\text{HgCl}_2$  in Pufferlösung (pH 6) aus, worauf das Oxydationsprodukt UV.-spektroskopisch (bei 330 nm) quantitativ bestimmt wird. Später isolierten KAUL *et al.* [3] ein Oxydationsprodukt in dunkelblauen Kristallen, Smp. 195° (Zers.), das N-frei und eventuell ein 8-substituiertes Phenanthren-3,4-dion sein soll. – GRIES [4] isolierte aus dem Oxydationsgemisch bei pH 6,3 «Substanz A» als tiefgrünes Pulver, Smp. 172°. IR.- und UV.-Spektren deuteten auf eine enge Verwandtschaft zum Apomorphin hin (evtl. mit semichinoider Struktur). Wir fanden, dass bei der Oxydation von wässrigen Apomorphin-hydrochlorid-Lösungen a) an der Luft, b) bei pH 6,3 mit  $\text{O}_2$  und c) bei pH 6 mit  $\text{HgCl}_2$  [5] [3], immer das gleiche Produkt entsteht. Dieses Oxydationsprodukt kann aus 2N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  mit  $\text{Chf}^2$ ) (!) ausgeschüttelt werden. Aus 500 mg IV, HCl erhielten wir so 275 mg Oxydationsprodukt, für das Formel VII (s. Formelschema) abgeleitet wird. Das UV.-Spektrum zeigte eine schon von GRIES [4] bei «Substanz A» beobachtete Solvatochromie:  $\lambda$  max: 530 (Ae), 534 (Bz), 585 (Chf) und 590 (*n*-Butanol). – Das Massenspektrum von VII stimmt auf  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_2$  (263), d.h. gegenüber IV hat VII vier Wasserstoffatome verloren. Die Farbe, das IR.-Spektrum (keine HO-Banden,  $>\text{C}=\text{O}$  bei  $6,0\mu$ ) sprechen für eine chinoide Struktur [6]. Die geringe Basizität (siehe oben) kann erklärt werden, wenn man den zusätzlichen Wasserstoffverlust in VII gegenüber IV durch Einführen einer Doppelbindung zwischen C(6a) und C(7) annimmt. Damit wird das Stickstoffatom Teil einer vinylogenen Lactamgruppierung und die Doppelbindung Teil eines Phenanthrenchinons. Das UV.-Spektrum von VII [590 (10300), 402 (9700), 334 (28900), 258 (9700)] ist damit vereinbar. Bewiesen wird Struktur VII durch das PR.-Spektrum (siehe Fig. 1). Es zeigt das richtige Verhältnis von aromatischen zu aliphatischen Protonen (6:7) und ausserdem H-C(7) als Singulett bei etwa 6,06 ppm, das zufällig die gleiche chemische Verschiebung aufweist wie das

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Dr. H. HOUTA, Pharmazeutisches Institut der Universität Basel, sowohl für die Grosszügigkeit, uns die Bearbeitung dieses Themas zu überlassen, als auch für die erste Menge an reinem VII.

<sup>2)</sup> Abkürzungen siehe exper. Teil.



bei höchstem Feld liegende Signal des H-C(9)-Dubletts. - Wir haben dann noch die im Formelschema angegebenen Reaktionen ausgeführt, um etwas Einblick in die Reaktivität der einzelnen Substanzen zu gewinnen. Die Reduktion von VII mit Zn-AcOH gab kein reines VIII, da es während der Aufarbeitung sehr schnell wieder zu VII oxydiert wird, sichtbar an der Blaufärbung und der Veränderung des UV.-Spektrums. Wir haben daher das rohe Reduktionsgemisch sofort mit  $Ac_2O/NaOAc$  zu IX acetyliert, dessen Struktur aus dem Massenspektrum ( $M^+$ : 349 =  $C_{21}H_{19}NO_4$ ), dem UV.-Spektrum [328 (17200), 260 (48300), 242 (52300)], dem IR.-Spektrum (keine HO-Schwingungen, O-Acetyl (phenolisch) bei  $5,64\mu$ , chinoides  $>C=O$  fehlt) und dem PR.-Spektrum (siehe Fig. 2) (Verhältnis der aliphatischen zu aromatischen Protonen wie 13:6, H-C(1) bei 8,92 ppm als Quartett bei niederstem Feld, H-C(7) als Singulett bei etwa 6,65 ppm) folgt. Es überrascht nicht sonderlich, dass das aus IV bereitete V unter den angewandten Bedingungen nicht nach IX dehydriert wird, da in V die Reaktivität des Brenzkatechinsystems durch Veresterung blockiert ist. - Hingegen gelang es ohne Schwierigkeiten, aus VI in 43-proz. Ausbeute amorphes X herzustellen. Nach DC entsteht X auch in geringer Ausbeute aus IX (siehe exper. Teil). Apomorphin-hydrochlorid-Lösungen bzw. Lösungen der quartären Salze I, II und III (Darstellung siehe exper. Teil) sind im Vergleich zu IV sehr stabil, Farbe und UV.-Spektrum ändern sich nur langsam. Für die leichte Autoxydation von Apomorphin sind also sowohl das freie Elektronenpaar des Stickstoffs als auch die beweglichen Elektronen der Sauerstoffatome notwendig. Ein detaillierter Oxydationsmechanismus ist aus dem vorhandenen Versuchsmaterial nicht ableitbar. - Eine leichte Oxydier-

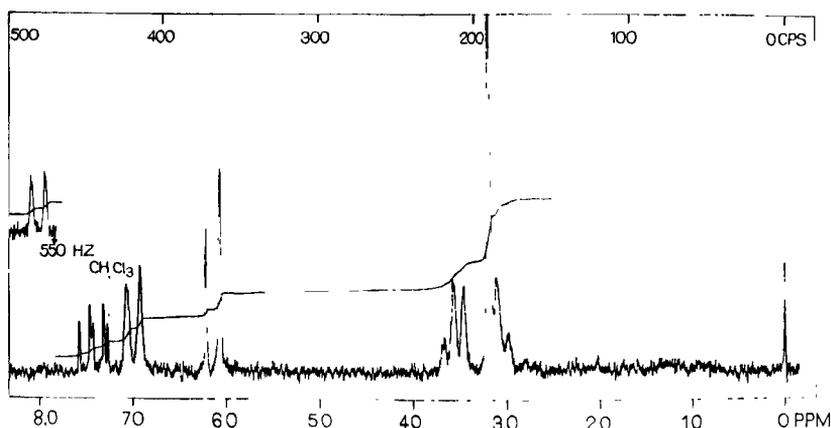


Fig. 1. PR.-Spektrum der Verbindung VII

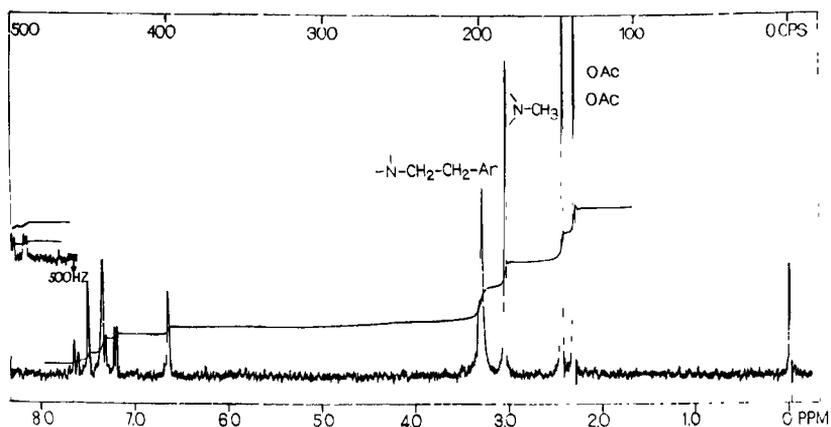


Fig. 2. PR.-Spektrum der Verbindung IX

barkeit beobachtete man auch bei andern Morphinanen (s. z. B. [9]). - Wir glauben, dass die «Substanz A» von GRIES [4] ein Gemisch aus VII und IV ist, da im UV. u. a. Absorption bei 272 nm auftritt, die in Apomorphin IV ebenfalls vorhanden ist, aber in VII fehlt. Das IR. zeigt noch eine HO-Bande. Unsere unter gleichen Bedingungen gebildete Substanz VII ist gegen weitere Oxydation stabil und nach DC einheitlich.

Herrn Prof. Dr. KUNO MEYER danken wir für die wohlwollende Förderung dieser Untersuchung. Die Arbeit wurde vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG unterstützt.

Die Massen- und PR.-Spektrn wurden in den Laboratorien der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, aufgenommen. Wir möchten den Herren Dres. G. ENGLERT und W. VETER sowie den Herren P. CASAGRANDE, B. MEIER und W. MEISTERS für die Aufnahme der Spektren und Hilfe bei ihrer Interpretation herzlich danken.

**Experimentelles.** - Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze etwa  $\pm 3^\circ$ . Alle UV.-Spektren sind in Me aufgenommen und in nm ( $\epsilon$ ) angegeben. Die Molekulargewichte bestimmte man massenspektroskopisch mit einem MS-9 der Firma A.E.I. bei 70 eV und mit Direkteinlass. Wenn nicht anders erwähnt, wurden die IR.-Spektren in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, und die PR.-Spektren in CDCl<sub>3</sub> aufgenommen.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, Ac<sub>2</sub>O = Essigsäureanhydrid, Ae = Diäthyläther, An = Aceton, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, DC = Dünnschichtchromatographie, dünn-schicht-chromatographisch, DMSO = Dimethylsulfoxid, E = Essigsäure-äthylester, Fr = Fraktion(en), Kieselgel = Kieselgel «MERCK» 0,05–0,2 mm, Me = Methanol, ML = Mutterlaugenrückstände, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, S = Singulett, W = Wasser.

VII aus IV. – a) 500 mg IV, HCl, in 100 ml W gelöst, wurden 4 Tage unter gelegentlichem Schütteln im Scheidetrichter aufbewahrt. Darauf wurde die tiefgrüne Lösung mit Chf extrahiert, das Chf jeweils 2mal mit W, 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und wieder mit W gewaschen, dann über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft: 5 mg VII als blaue Substanz.

b) 500 mg IV, HCl wurden in 50 ml W gelöst. Durch die mit NaOAc auf pH 6,3 gebrachte Lösung wurde 7 Std. lang O<sub>2</sub> (etwa 40 ml/Min.) geleitet. Darauf wie unter a) aufgearbeitet: 63 mg VII als blaue Substanz.

c) 500 mg IV, HCl, in 50 ml W gelöst, wurden mit 50 ml 5-proz. wässriger HgCl<sub>2</sub>-Lösung und 100 ml Zitronensäure-Phosphat-Puffer (pH 6) 30 Min. auf 70° erhitzt. Darauf wie unter a) beschrieben aufgearbeitet: 350 mg rohes VII (81%), aus Chf-Ae 275 mg (53%) feine schwarzblaue Prismen von VII, Smp. >350°. Die UV-, IR-, PR.- und MS.-Spektren sind im theoretischen Teil erwähnt.

IX aus VII: 170 mg VII wurden in 20 ml AcOH mit 150 mg Zn-Pulver bis zur hellbraunen Farbe der Lösung reduziert, darauf versetzte man mit 20 ml Ac<sub>2</sub>O und 2 g frisch geschmolzenem NaOAc und erhitzte das Ganze 100 Min. unter leichtem Rückfluss. Es wurde mit Chf verdünnt, im Vakuum eingengt, wiederum mit Chf versetzt, mit verd. Sodalösung die Säure ausgeschüttelt, das Chf mit W neutralgewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft: 210 mg. Im DC [Chf-Me-(8:1)] zwei Flecke. Die Substanz wurde an 8 g Kieselgel chromatographiert, Fr. zu 25 ml. Die Fr 2–3 (Chf) eluierten 118 mg; nach zweimaligem Umkristallisieren aus Chl-Ae 45 mg IX als gelbgrüne Prismen, Smp. 168–170°. Die ML gab aus Chf-Me weitere 35 mg IX, Smp. 167–169°. UV-, IR-, PR.- und MS.-Spektren siehe theoretischer Teil. Die Fr 4–6 (Chf) = 50 mg waren amorph und wurden nicht weiter untersucht.

VI aus IV: 450 mg Apomorphin (IV), in 20 ml Me gelöst, wurde 40 Std. bei 0° mit überschüssiger, ätherischer CH<sub>3</sub>N<sub>2</sub>-Lösung behandelt. Danach war nach DC [Chf-Me-(9:1)] kein Ausgangsmaterial mehr vorhanden. Das überschüssige CH<sub>3</sub>N<sub>2</sub> wurde mit AcOH zersetzt, die Lösung im Vakuum eingedampft, in Chf aufgenommen, das Chf mit 2N NaOH und W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. 380 mg nichtphenolische Basen, die mit Chf durch 18 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> («WOELM», basisch, Akt. 1) in 2 Fr zu je 15 ml filtriert wurden: 300 mg. Man chromatographierte sie darauf an 8 g Kieselgel, Fr zu 15 ml. Die Fr 4–7 [Chf-Me-(98:2)] eluierten 250 mg VI, das nach DC [Chf-Me-(9:1)] einheitlich war. MS: M<sup>+</sup> = 295 = C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>. UV.: 270 (16000). IR.: kein HO-, kein >C=O. PR.: 1 N-Methyl (2,55 ppm, S) 2 O-Methyl (3,70 und 3,88 ppm), Verhältnis aliphatische: aromatische Protonen wie 16:5.

X aus VI: 65 mg VI, in 10 ml 0,1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst, wurden mit gesättigter KHCO<sub>3</sub>-Lösung auf pH 5 gebracht, mit 10 ml Zitronensäure-Phosphat-Puffer (pH 6) und mit total 10 ml 5-proz. wässriger HgCl<sub>2</sub>-Lösung portionenweise versetzt. Die Lösung trübte sich, und es bildete sich ein gelbbrauner Niederschlag. Die Mischung erhitzte man 30 Min. auf 70°, säuerte mit 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> an, extrahierte mit Chf, wusch letzteres je 3mal mit 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und W, trocknete über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und dampfte im Vakuum ein: 40 mg, die an 3 g Kieselgel in Fr zu 10 ml chromatographiert wurden. Fr 1 (Chf) eluierte 28 mg X, nach DC [Pe-E-(4.1)] und PR.-Spektren (siehe unten) einheitlich. MS: M<sup>+</sup> = 293 = C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>. UV.: 330 (11500), 262 (32000), 244 (35500), 216 (30000). IR.: kein HO-, kein >C=O, 1618, 1500, 1466, 1394, 1337, 1258 cm<sup>-1</sup>. PR.: 1 N-Methyl (3,05 ppm, S), 2 O-Methyl (3,90 und 3,97 ppm), –CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>– (3,32 ppm, S), Verhältnis aliphatische: aromatische Protonen wie 11:6, H-C(7): 6,65 ppm, S.

V aus IV: 250 mg IV, HCl wurden in 2,5 ml Py mit 1 ml Ac<sub>2</sub>O 30 Std. bei 20° acetyliert, im Vakuum eingengt, mit Bz 4mal eingedampft, in Chf aufgenommen, 1mal mit 2N NH<sub>4</sub>OH und 4mal mit W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft: 300 mg Substanz, die an 12 g Kieselgel in Fr zu 50 ml chromatographiert wurde. Die 8. Fr eluierte 160 mg V, nach DC [Chf-Me-(9:1)] und PR.-Spektrum einheitlich. Nach zweimaligem Kristallisieren aus Ae-Pe 80 mg prismatische Nadeln, Smp. 126–128°. MS: M<sup>+</sup> = 351 = C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>. UV.: 268 (17000). IR.: Kein HO-, 1770, 1372, 1212 cm<sup>-1</sup>. PR.: 1 N-Methyl und 2 O-Acetyl bei 2,53, 2,28 und 2,25 ppm. Verhältnis von aliphatischen zu aromatischen Protonen wie 16:5.

*II aus V*: 80 mg V methylierte man in 5 ml An mit 0,4 ml Methyljodid 1 Std. bei 20°. Die danach ausgeschiedenen Nadeln von II wurden abfiltriert und mit wenig An gewaschen: 60 mg, Smp. 215–218°. Aus Me-An umkristallisiert, Smp. 220–224°. Sie waren nach PR.-Spektrum einheitlich. MS<sup>3</sup>): 365 ( $M^+ - 1$ ) = C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>. UV.: 267 (18000). IR. (KBr): 1770, 1625, 1480, 1430, 1375, 1263, 1211 cm<sup>-1</sup>. PR. (d<sub>6</sub>-DMSO): 2 O-Acetyl (2,30 ppm), 2 N-Methylgruppen als etwas verbreitete Singulette (2,98 und 3,41 ppm). Misch-Smp. mit aus I bereitetem II: 220–224°.

*I aus IV*: 400 mg IV wurden in 15 ml An mit 1 ml Methyljodid 30 Min. bei 20° methyliert. Die ausgeschiedenen Nadeln von I wurden abfiltriert und mit wenig An gewaschen: 200 mg, nach dem PR.-Spektrum einheitliches I, Smp. 170°, umkristallisiert aus Me-An-Nadeln, Smp. 172–177° (Sint. ab 150°). MS<sup>3</sup>): 281 ( $M^+ - 1$ ) = C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>. UV.: 274 (15600). IR. (KBr): 1698, 1623, 1587, 1502, 1466, 1366, 1282, 1000, 970, 800 cm<sup>-1</sup>. PR. (d<sub>6</sub>-DMSO): 2 N-Methyl als verbreiterte Singulette (2,96 und 3,40 ppm).

*II aus I*: 50 mg I wurden in 1 ml Py mit 1 ml Ac<sub>2</sub>O 5 Std. bei 90°, dann über Nacht bei 20° acetyliert. Nach dem Eindampfen aus Chf-An II als Nadeln, Smp. 216–224°. Umkristallisiert aus Me-An Nadeln, Smp. 220–224°. Misch-Smp. mit aus V bereitetem II: 220–224°.

*Dehydrierungsversuch an V*: 90 mg V in 2 ml 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 10 ml W gelöst, mit gesättigter KHCO<sub>3</sub>-Lösung auf etwa pH 5 gebracht. Dann mit 10 ml Zitronensäure-Zitrat-Puffer (pH 6) und 10 ml 5-proz. wässriger HgCl<sub>2</sub>-Lösung versetzt und 30 Min. auf 70° erhitzt (danach war die Reaktionslösung trüb und hellblau). Die Lösung extrahierte man dann erschöpfend mit Chf und isolierte den Neutralteil in üblicher Weise: 6 mg VII. (Nach DC etwas verunreinigt mit einer unpolareren Substanz.) Die wässrige Phase wurde mit einem Überschuss an KHCO<sub>3</sub> und Ammoniak versetzt und mit Chf extrahiert. Die Chf-Lösung wusch man 2mal mit W, trocknete über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, und dampfte im Vakuum ein: 80 mg V.

*III aus VI*. 140 mg VI wurden in 10 ml An gelöst und 16 Std. bei 20° mit 0,6 ml CH<sub>3</sub>I stehengelassen. Danach von den Kristallen abfiltriert und 2mal aus Me-An umkristallisiert: 120 mg lange, weisse Nadeln III, Smp. 194–195°. MS<sup>3</sup>): 309 ( $M^+ - 1$ ): C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub>. UV.: 270 (20000). IR. (KBr): 1577, 1493, 1468, 1435, 1410, 1262, 1136, 1075, 1052, 948, 806 cm<sup>-1</sup>. PR. (d<sub>6</sub>-DMSO): 8,3–7,0 ppm: 5 aromatische Protonen; etwa 4,8 ppm: H-C(6a) als «Quartett»; 3,83 und 3,62 ppm: 2 × O-CH<sub>3</sub>; 3,40 und 2,96 ppm: >N-CH<sub>3</sub>



*X aus IX*: 20 mg IX wurden in 5 ml THF, 0,3 ml konz. Ammoniak und überschüssiger ätherischer CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>-Lösung 24 Std. bei 0° stehengelassen. Mit AcOH neutralisiert und Überschuss an CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> zerstört, eingedampft, in Chf aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet: 18 mg. An 3 g Kieselgel chromatographiert. Fr zu 10 ml. Fr 1 (Chf) eluierte 2 mg Substanz. Nach DC drei Hauptflecke. Der unpolarste der Hauptflecke zeigte im DC in vier Systemen [Pe-E-(4:1); Pe-An-(4:1); Pe-Chf-(1:1); Pe-Ac-(4:1)] jeweils den gleichen R<sub>f</sub>-Wert wie X.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. V. ARNY, A. TAUB & A. STEINBERG, J. Amer. pharmaceut. Ass. Sci. Ed. 20, 1153 (1931); P. MAJLÁT, A. FISCHER, T. ELLÖ & S. FARKAS, Deutsche Apoth. Ztg. 106, 919 (1966); A. M. BURKMAN, J. Pharmacy & Pharmacol. 15, 461 (1963).
- [2] V. PARRAK, O. MOHELSKÁ & F. MACHOVIČOVÁ, Pharmazie 14, 685 (1959).
- [3] P. N. KAUL & E. BROCKMANN-HANSEN, J. pharmaceut. Sci. 50, 266 (1961).
- [4] H. GRIES, Mh. Chem. 93, 941 (1962).
- [5] P. N. KAUL, E. BROCKMANN-HANSEN & E. L. WANG, J. Amer. pharmaceut. Ass. 48, 638 (1959).
- [6] H. J. TEUBER & G. STAIGER, Chem. Ber. 88, 802 (1955); W. OTTING & G. STAIGER, *ibid.* 88, 828 (1955).
- [7] L. M. SMALL, B. F. FARIS & J. E. MALLOUSE, J. org. Chemistry 5, 334 (1940).
- [8] R. PSCHORR, B. JAECKEL & H. FECHT, Ber. deutsch. chem. Ges. 35, 4377 (1902).
- [9] R. GREWE & W. FRIEDRICHSEN, Chem. Ber. 100, 1550 (1967), besonders Seite 1555 oben.
- [10] M. HESSE, W. VETTER & H. SCHMID, Helv. 48, 674 (1965).

<sup>3</sup>)  $M^+$  bedeutet hier das Ammonium-Ion des Ausgangssalzes. Zum Zerfall quartärer Stickstoffverbindungen im Massenspektrometer siehe [10].