

## SUMMARY

The authors describe a technique which allows the direct transfer of the results of thin-layer chromatography or paper chromatography to preparative scale separations: a horizontal column is made using finely powdered adsorbents (silica gel, alumina, or cellulose powder) in a cellophane tube which can be cut into slices after development.

Laboratoire de chimie organique  
Université de Lausanne  
Organisch-chemisches Institut  
der Universität Basel

## 32. Synthese von Catechol-O-methyl-transferase-hemmenden Verbindungen

### In den Catecholaminmetabolismus eingreifende Substanzen

1. Mitteilung

von A. Carlsson, M. Lindqvist, S. Fila-Hromadko und H. Corrodi

(7. XII. 61)

Die zwei wichtigsten Abbauege für Adrenalin und nahe verwandte Catecholamine im Säugetierorganismus scheinen die oxydative Desaminierung durch die Monoaminoxidase (MAO) und die 3-O-Methylierung durch die Catechol-O-methyl-transferase (COMT) zu sein. Volle Klarheit über die relative Bedeutung dieser beiden Wege hat man jedoch noch nicht erlangt<sup>1)</sup>. Dies dürfte teilweise darauf zurückzuführen sein, dass selektive Hemmer der COMT bis jetzt nicht zugänglich waren. Die bisher am meisten für diese Zwecke verwendete Substanz, das Pyrogallol, hat ausgesprochene Giftwirkungen (u. a. Methämoglobinämie), welche seine Anwendung als COMT-Hemmer in hohem Grad einschränken.

Amide der allgemeinen Formel I schienen uns als synthetische COMT-hemmende Verbindungen mit geringer Toxizität geeignet. In der vorliegenden Arbeit sind die Synthese und pharmakologischen Eigenschaften von Substanzen beschrieben, in denen  $n = 0, 1$  oder  $2$ ,  $R_1$  und  $R_2$  Wasserstoff oder Äthyl,  $R_3$  Wasserstoff,  $R_4$  Hydroxyl und  $R_5$  Wasserstoff oder Hydroxyl bedeuten. In 2-Stellung hydroxylierte Verbindungen ( $R_3 = OH$ ), sowie Substanzen mit anderer Struktur werden in kommenden Arbeiten behandelt werden.

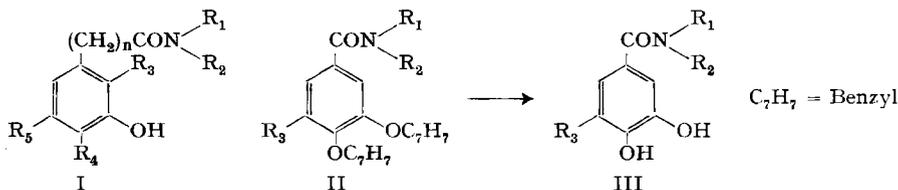
Da erwartet werden konnte, dass die Amide mit zwei oder drei phenolischen Hydroxylgruppen in Lösung sehr luftempfindlich sind und dass die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte deshalb und wegen der beträchtlichen Wasserlöslichkeit der Stoffe erschwert ist, wurde die Synthese so geleitet, dass die katalytische Hydro-

<sup>1)</sup> J. AXELROD in «Adrenergic Mechanisms», CIBA Foundation Symposium, Editor J. R. Vane, Ltd. Churchill, London 1960, S. 28–39; N. KIRSHNER, L. TERRY & D. D. POLLARD, Arch. int. Pharmacodyn. 137, 421 (1961); J. R. CROUT, C. R. CREVELING & S. UDENFRIEND, J. Pharmacol. expt. Therap. 132, 269 (1961).

<sup>2)</sup> Vgl. P. L. COUTURIER, Ann. Chim. (11) 70, 559 (1938).

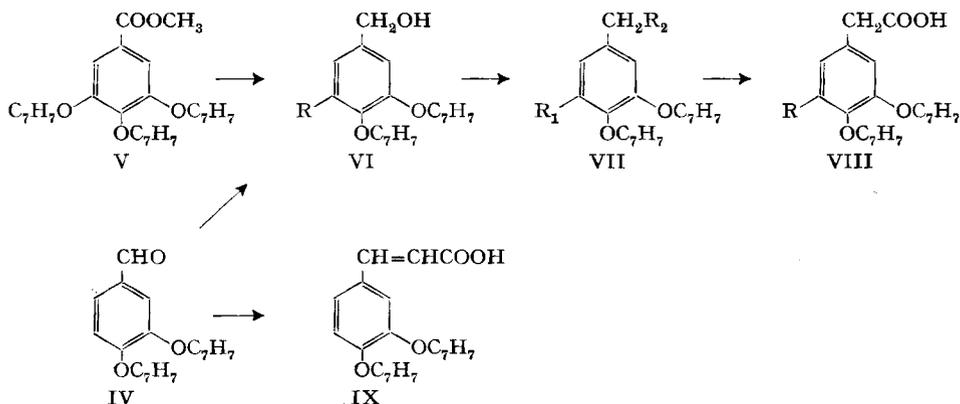
genolyse der entsprechenden Benzyläther die letzte Stufe war. Trotz schonender Aufarbeitung verfärbten sich jedoch auch so die Amide z. T. bei der Umkristallisation.

Die einfachsten Glieder dieser Reihe, das Gallamid (III,  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = OH$ ) und die Amide der Protocatechusäure (III,  $R_3 = H$ ) sind längst bekannt<sup>2)</sup>. Auch sie haben wir jedoch durch Hydrogenolyse der entsprechenden O-Benzyläther II hergestellt.



In der Reihe der Phenylacetamide ( $n = 1$ ) bestand die Aufgabe darin, eine ergiebige und einfache Darstellungsweise der 3,4-Dibenzyl-oxy-phenylelessigsäure (VIII,  $R = H$ ) und der 3,4,5-Tribenzyl-oxy-phenylelessigsäure (VIII,  $R = OC_7H_7$ ) zu finden. Die erstere wurde von SCHÖPF *et al.*<sup>3)</sup> durch Benzylierung der schwierig zugänglichen 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure erhalten. Einfacher ist jedoch die Darstellung aus 3,4-Dibenzyl-oxy-benzaldehyd (IV) über die Stufen VI  $\rightarrow$  VII ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = Cl$ )  $\rightarrow$  VII ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = CN$ )  $\rightarrow$  VIII ( $R = H$ ). Aus 3,4,5-Tribenzyl-oxy-benzoesäure-methylester<sup>4)</sup> (V) wurde durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid der 3,4,5-Tribenzyl-oxy-benzylalkohol (VI,  $R = OC_7H_7$ ) erhalten, der genau gleich weiter verarbeitet wurde.

Die Derivate der  $\beta$ -Phenylpropionsäure ( $n = 2$ ) wurden aus 3,4-Dibenzyl-oxy-benzaldehyd (IV) über die 3,4-Dibenzyl-oxy-zimtsäure<sup>5)</sup> (IX) erhalten.

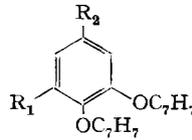


Alle Benzyl-oxy-Säuren wurden über die Säurechloride in die in Tabelle 1 zusammengefassten Amide übergeführt.

<sup>3)</sup> C. SCHÖPF, H. PERREY & L. JÄCKH, *Liebigs Ann. Chem.* **497**, 47 (1932).

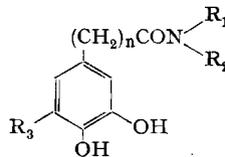
<sup>4)</sup> R. O. CLINTON & T. A. GEISSMAN, *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 85 (1943); R. ARMITAGE, G. S. BAYLISS, J. W. GRAMSHAW, E. HASLAM, R. D. HAWORTH, K. JONES, H. J. ROGERS & T. SEARLE, *J. chem. Soc.* **1961**, 1842.

<sup>5)</sup> Neulich ebenfalls dargestellt von A. C. NEISH, *Canad. J. Biochemistry Physiol.* **37**, 1431 (1959).

Tabelle 1. *Benzyloxy-Amide*

Nr.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Smp.	Bruttoformel	Analyse			
					ber.		gef.	
					C%	H%	C%	H%
IIa	H	CONH <sub>2</sub>	189–190°	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> N	75,65	5,74	75,63	5,83
IIb	H	CON(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	185–186°	C <sub>25</sub> H <sub>27</sub> O <sub>3</sub> N	77,09	6,99	76,91	7,04
IIc	OC <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	CONH <sub>2</sub>	166°	C <sub>28</sub> H <sub>25</sub> O <sub>4</sub> N	76,52	5,73	76,41	5,55
X	H	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	136°	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> N	76,06	6,09	75,96	6,21
XI	H	CH <sub>2</sub> CONHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	112°	C <sub>24</sub> H <sub>25</sub> O <sub>3</sub> N	76,77	6,71	76,70	6,65
XII	H	CH <sub>2</sub> CON(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	ölig					
XIII	OC <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	146°	C <sub>28</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> N	76,78	6,00	76,48	5,87
XIV	H	CH=CHCONH <sub>2</sub>	165°	C <sub>23</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> N	76,68	5,89	76,58	5,83
XV	H	CH=CHCON(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	108°	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>3</sub> N	78,04	7,03	78,47	6,89

Durch Hydrogenolyse in Gegenwart von Palladium-Kohle liessen sich die Benzyloxy-Amide leicht und quantitativ in die phenolischen Amide überführen. Die 3,4-Dibenzoyloxy-zimtsäureamide (XIV und XV) erlitten dabei natürlich auch Hydrierung der Doppelbindung.

Tabelle 2. *Phenolische Amide*

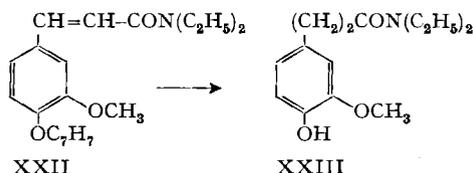
Nr.	n	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Smp.	Bruttoformel	Analyse			
							ber.		gef.	
							C%	H%	C%	H%
IIIa	0	H	H	H	207° (Lit. 212°) <sup>6)</sup>					
IIIb	0	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	152° (Lit. 149–151°) <sup>2)</sup>					
IIIc	0	H	H	OH	243° (Lit. 244°) <sup>7)</sup>					
XVI	1	H	H	H	147°	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N	57,48	5,43	57,41	5,46
XVII	1	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	115°	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub> N	61,52	6,71	61,47	6,77
XVIII	1	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	139°	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> N	64,55	7,68	64,42	7,63
XIX	1	H	H	OH	185°	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> N	52,46	4,95	52,60	5,02
XX	2	H	H	H	140°	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N	59,66	6,12	59,32	6,24
XXI	2	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	135°	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub> N	65,79	8,08	65,89	8,05

<sup>6)</sup> G. BARGER, J. chem. Soc. 93, 563 (1908).

<sup>7)</sup> Vgl. H. E. FIERZ-DAVID & L. BLANGEY, Grundlegende Operationen der Farbenchemie, 5. Aufl., Wien 1943, S. 163.

Im experimentellen Teil ist auch die direkte Herstellung von XVI aus 3,4-Dihydroxy-phenylacetyl-methylester mit Ammoniak beschrieben. Die Phenolgruppen liessen sich auch durch Acetylierung schützen. Der Nachteil beider dieser Reaktionsfolgen war jedoch, dass sich alkalische Lösungen der Phenolamide sofort dunkel verfärbten.

Auch das 3-O-Methyl-Derivat von XXI, das 3-Methoxy-4-hydroxy- $\beta$ -phenylpropionsäure-diäthylamid (XXIII), wurde durch Hydrogenolyse und Hydrierung von 3-Methoxy-4-benzyloxy-zimtsäure-diäthylamid (XXII) erhalten.



*Biologische Untersuchungen.* Die Prüfung der Substanzen auf ihre COMT-hemmende Wirkung wurde hauptsächlich *in vivo* an Mäusen durchgeführt.

Die Testsubstanzen wurden intraperitoneal (i.p.) in variierenden Dosen injiziert. Bei der Prüfung der COMT-Aktivität im Gehirn wurde zuerst ein MAO-Hemmer (Nialamid, 100 mg/kg i.p.) appliziert. Nach einer halben Stunde wurden dann die Testsubstanzen und nach einer weiteren halben Stunde Dopa (L-3,4-Dihydroxyphenylalanin), gewöhnlich in einer Dose von 7,5 mg/kg i.p., eingespritzt. Nach dem Ablauf einer weiteren Stunde wurden die Tiere getötet und ihre Gehirne auf Gehalt an Dopamin (3,4-Dihydroxy- $\beta$ -phenyläthylamin) und dessen 3-O-methyliertem Derivat 3-Methoxytyramin analysiert. Ein verminderter Gehalt an 3-Methoxytyramin bei unverändertem oder erhöhtem Gehalt an Dopamin wurde als Kriterium für COMT-hemmende Aktivität betrachtet.

Mehrere der untersuchten Substanzen erwiesen sich als wirksam. U. a. zeigte es sich, dass 3,4-Dihydroxyphenylacetamid (Homoprotocatechusäureamid, XVI) eine gute Aktivität und gleichzeitig eine niedrige Toxizität hat. Eine Dosis von 2 g/kg wurde gut toleriert und gab eine sehr kräftige Hemmung der 3-Methoxytyramin-Bildung. Schon 500 mg/kg gaben einen deutlichen Effekt (Gehalt an 3-Methoxytyramin im Gehirn 0,2  $\gamma$ /g verglichen mit 0,7  $\gamma$ /g in Kontrolltieren). Auch Protocatechuamid (IIIa) zeigte eine gute Aktivität, während 3,4-Dihydroxy- $\beta$ -phenylpropionsäureamid (XX) toxischer war ohne entsprechende Erhöhung des enzymhemmenden Effektes. Bei einem direkten Vergleich zeigte Pyrogallol einen wesentlich weniger selektiven Effekt auf die COMT als XVI. Für eine deutliche Hemmung der 3-Methoxytyramin-Bildung im Mäusegehirn (entsprechend der Wirkung von 500 mg/kg XVI) war eine Dosis von ungefähr 300 mg/kg nötig, welche aber daneben deutlich Intoxikationssymptome erzeugte.

XVI potenzierte wie erwartet den zentralstimulierenden Effekt von Dopa. Aber auch die pilomotorstimulierende Wirkung von Adrenalin in Mäusen (0,5 mg/kg i.p.) wurde kräftig erhöht<sup>8)</sup>.

Bei Mäusen, welche mit einem MAO-Hemmer in hoher Dosierung (Nialamid, 500 mg/kg oder Tranylcypromin, 10 mg/kg i.p.) vorbehandelt wurden, blockiert XVI

<sup>8)</sup> Fil. lic. S. Ross, Pharmakologisches Laboratorium der AB ASTRA, Södertälje, bestätigte die COMT-hemmende Wirkung von XVI auch bei *in-vitro*-Versuchen (persönliche Mitteilung).

in hohen Dosen (2 g/kg) die zentrale Stimulierung, welche die Folge der MAO-Hemmung ist. Statt dessen wird überraschenderweise ein *depressiver Effekt* bemerkt. Eine Erklärung für diese paradoxe Reaktion kann gegenwärtig nicht gegeben werden.

Die tertiären Amide XVIII und XXI gaben in Dosen von ungefähr 300 mg/kg (i.p.) Krämpfe von audiogenem Typus.

Eine eingehende pharmakologische Untersuchung der beschriebenen Substanzen wird anderswo publiziert werden.

### Experimenteller Teil<sup>9)</sup>

**A. Herstellung der Benzyloxy-säuren.** – 1. *3,4-Dibenzyloxy-benzoesäure*: aus 3,4-Dibenzyloxy-benzaldehyd (IV) durch Oxydation mit Kaliumpermanganat in Aceton analog der Herstellung der 2,3-Dibenzyloxy-benzoesäure<sup>10)</sup>.

2. *3,4,5-Tribenzyloxy-benzoesäure*: durch Benzylierung von Gallussäure-methylester und Verseifung des entstehenden Esters V<sup>4)</sup>.

3. *3,4-Dibenzyloxy-phenyllessigsäure* (VIII, R=H). – a) *3,4-Dibenzyloxy-benzylalkohol* (VI, R=H): 40 g IV wurden bei 50° in 500 ml Äthanol gelöst und portionenweise unter Rühren mit 8 g Natriumborhydrid versetzt. Nach Zugabe wurde 1 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das nach dem Verdünnen mit Wasser ausgeschiedene Produkt wurde filtriert und aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Smp. 71–72°, Ausbeute 37,2 g.

$C_{21}H_{20}O_3$  Ber. C 78,72 H 6,29% Gef. C 78,73 H 6,33%

b) *3,4-Dibenzyloxy-benzylchlorid* (VII, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Cl): 10 g VI (R = H) wurden in 150 ml abs. Äther suspendiert und mit 10 g Thionylchlorid versetzt. Die in kurzer Zeit klar gewordene Lösung wurde 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Verdampfen im Vakuum gab 10,5 g bräunliche Kristalle, welche ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet wurden.

c) *3,4-Dibenzyloxy-phenylacetimid* (VII, R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = CN): 7,0 g rohes Chlorid, 3 g Natriumjodid, 3,5 g Natriumcyanid und 100 ml Methyläthylketon wurden unter Umrühren 10 Std. gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde auf 500 ml Wasser gegossen und ausgeäthert. Die übliche Aufarbeitung gab 6,3 g Öl, welches in Benzollösung durch 150 g Alox (Akt. I) filtriert wurde. Das Benzoleluat wurde eingengt und der Rückstand aus Aceton-Cyclohexan umkristallisiert. Smp. 80°, Ausbeute 5,5 g.

$C_{22}H_{19}O_2N$  Ber. C 80,22 H 5,81% Gef. C 80,25 H 5,94%

d) *3,4-Dibenzyloxy-phenyllessigsäure* (VIII, R = H): 30 g Nitril, 150 ml Methanol, 100 ml Dioxan und eine Lösung von 50 g Kaliumhydroxid in 50 ml Wasser wurden 24 Std. (bis zum Aufhören der Ammoniakentwicklung) unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum verdampft, der Rückstand in 300 ml Wasser gelöst und ausgeäthert. Die alkalische Lösung wurde mit konz. Salzsäure angesäuert und der Niederschlag aus Aceton-Cyclohexan oder Methanol-Wasser umkristallisiert. Smp. 109° (Schöpf *et al.*<sup>3)</sup> fanden 109°). Ausbeute 22,0 g.

4. *3,4-Dibenzyloxy-zimtsäure* (IX): 6,36 g 3,4-Dibenzyloxy-benzaldehyd (IV), 4,16 g Malonsäure, 18 ml Pyridin und 1 ml Piperidin wurden 1 Std. auf 80° und dann 4 Std. zum Sieden erhitzt. Nach Verdünnen mit 100 ml Eiswasser und Ansäuern mit konz. Salzsäure wurde filtriert und der Niederschlag aus Aceton-Methanol umgelöst. Smp. 202°, Ausbeute 7,2 g.

$C_{23}H_{20}O_4$  Ber. C 76,67 H 5,59% Gef. C 76,54 H 5,63%

5. *3-Methoxy-4-benzyloxy-zimtsäure*: aus Benzyl-vanillin analog IV<sup>11)</sup>.

6. *3,4,5-Tribenzyloxy-phenyllessigsäure* (VIII, R = OC<sub>7</sub>H<sub>7</sub>). – a) *3,4,5-Tribenzyloxy-benzylalkohol* (VI, R = OC<sub>7</sub>H<sub>7</sub>): 50 g 3,4,5-Tribenzyloxy-benzoesäuremethylester<sup>4)</sup> (V) wurden in 200 ml warmem abs. Dioxan gelöst und unter Umrühren zu einer Suspension von 8 g Lithium-

<sup>9)</sup> Alle Smp. sind unkorrigiert.

<sup>10)</sup> K. W. MERZ & J. FINK, Arch. Pharmaz. 289, 347 (1956).

<sup>11)</sup> H. KATAOKA, Ann. Repts. ITSUU Lab. (Tokio) 1957, Nr. 1; Chem. Abstr. 51, 16502 (1957).

aluminiumhydrid in 200 ml abs. Äther getropft. Nach 4-stdg. Kochen wurde der Überschuss an Reduktionsmittel durch vorsichtige Zugabe von Wasser zerstört und das Gemisch auf eine Lösung von 150 g Weinsäure in 500 ml Wasser gegossen. Ausschütteln mit Methylchlorid gab nach üblicher Aufarbeitung und Umkristallisation aus Methanol 44 g feine Nadeln vom Smp. 111°.

$C_{28}H_{26}O_4$  Ber. C 78,85 H 6,14% Gef. C 78,75 H 6,05%

b) *3,4,5-Tribenzyloxy-benzylchlorid* (VII,  $R_1 = OC_7H_7$ ,  $R_2 = Cl$ ): 40 g subst. Benzylalkohol VI ( $R = OC_7H_7$ ) wurden in 500 ml abs. Äther und 50 ml Thionylchlorid 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Verdampfen im Vakuum wurde der Rückstand aus Chloroform-Methanol umgelöst: 40 g vom Smp. 105°.

$C_{28}H_{25}O_3Cl$  Ber. C 75,58 H 5,66% Gef. C 75,74 H 5,75%

c) *3,4,5-Tribenzyloxy-phenylacetoneitril* (VII,  $R_1 = OC_7H_7$ ,  $R_2 = CN$ ): 40 g obiges Chlorid, 15 g Natriumjodid und 15 g Natriumcyanid wurden in 400 ml Methyläthylketon 14 Std. unter Rückfluss gekocht. Das Gemisch wurde auf Wasser gegossen und mit Chloroform extrahiert. Übliche Aufarbeitung und Umkristallisation aus Chloroform-Methanol gab 33,5 g Kristalle vom Smp. 100°.

$C_{28}H_{25}O_3N$  Ber. C 79,97 H 5,79% Gef. C 79,89 H 5,81%

d) *3,4,5-Tribenzyloxy-phenylelessigsäure* (VIII,  $R = OC_7H_7$ ): 30 g obiges Nitril, 40 g Kaliumhydroxid, 40 ml Wasser, 200 ml Dioxan und 200 ml Methanol wurden 18 Std. (bis zum Aufhören der Ammoniakentwicklung) unter Rückfluss gekocht. Verdünnen mit Wasser und Ansäuern mit konz. Salzsäure gab einen kristallisierten Niederschlag, der filtriert und aus Methanol-Wasser umgelöst wurde. Smp. 109°. Ausbeute 21 g.

$C_{28}H_{25}O_3N$  Ber. C 76,63 H 5,77% Gef. C 76,74 H 5,61%

**B. Herstellung der Benzyloxy-Säurechloride:** aus den Benzyloxy-Säuren mit Thionylchlorid.

Beispiel: *3,4-Dibenzyloxy-phenylacetylchlorid*. 21,0 g Säure VIII ( $R = H$ ) wurden mit 70 ml Benzol und 40 ml Thionylchlorid 2 Std. zum Sieden erhitzt. Nach dem Verdampfen im Vakuum blieb ein Öl zurück, das ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet wurde.

**C. Herstellung der Benzyloxy-Amide.** – Beispiel: *3,4-Dibenzyloxy-phenylacetamid* (X). 20 g rohes 3,4-Dibenzyloxy-phenylacetylchlorid wurden in 30 ml Benzol gelöst und zu 100 ml 10-proz. wässriger Ammoniaklösung gegeben. Nach 1 Std. wurde filtriert und der Kristallkuchen aus Methanol-Wasser umgelöst. Prismen vom Smp. 136°. Ausbeute 18 g.

Analyse und Smp. der dargestellten Amide s. Tab. 1. Bei der Herstellung der substituierten Amide wurde natürlich die Ammoniaklösung durch eine wässrige Lösung der entsprechenden Amine ersetzt.

**D. Herstellung der phenolischen Amide.** – Beispiel: *3,4-Dihydroxyphenylacetamid* (XVI). 2,3 g Benzyloxy-amid X wurden in 100 ml Äthanol in Gegenwart von 0,5 g Pd-Kohle (10%) hydriert. In 15 Min. wurden 303 ml Wasserstoff aufgenommen (ber. 318 ml), worauf die Hydrierung zum Stillstand kam. Filtration und Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum gab 1,2 g Kristalle, die aus Essigester umgelöst wurden. Smp. 147°.

Analyse und Smp. aller dargestellten Hydroxyamide sind aus Tab. 2 ersichtlich. In allen Fällen kann die Hydrierung in Eisessig ausgeführt werden.

*3-Methoxy-4-benzyloxy-zimtsäure-diäthylamid* (XXII): aus Methanol-Wasser, Smp. 85°.

$C_{21}H_{25}O_3N$  Ber. C 74,28 H 7,45% Gef. C 74,28 H 7,40%

*3-Methoxy-4-hydroxy-β-phenylpropionsäure-diäthylamid* (XXIII): Durch Hydrierung von XXII in Äthanol. Öl, das bisher nicht kristallisierte.

**E. Direkte Umsetzung von 3,4-Dihydroxy-phenylelessigsäure-methylester zu XVI.**– 5 g Ester wurden mit 50 ml 20-proz. wässriger Ammoniaklösung 12 Std. stehengelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° eingedampft und der dunkelbraune, kristallisierende Rückstand aus Essigester umgelöst. Smp. 146°.

## SUMMARY

The synthesis of a series of compounds with the general structure shown in formula I is described. These compounds, especially 3,4-dihydroxyphenylacetamide (XVI), are potent and nontoxic inhibitors *in vivo* of catechol-O-methyl transferase. They compare favourably with pyrogallol and other known inhibitors of this enzyme.

Pharmakologisches Institut  
der Universität Göteborg und  
Chemisches Forschungslaboratorium  
der AB HÄSSLE, Göteborg

### 33. Mikrobiologische Hydroxylierungen an Mutterkornalkaloiden vom Clavin-Typus mit dem mexikanischen Rauschpilz

*Psilocybe semperviva* HEIM et CAILLEUX

52. Mitteilung über Mutterkornalkaloide<sup>1)</sup>

von A. Brack, R. Brunner und H. Kobel

(7. XII. 61)

Während über mikrobiologische Reaktionen an Naturstoffen, ganz besonders an Steroiden, in jüngerer Zeit eine reichliche Erfahrung vorliegt, ist über solche Umwandlungen an Alkaloiden noch sehr wenig bekanntgeworden<sup>2)</sup>. In einer früheren Arbeit konnten wir zeigen<sup>3)</sup>, dass der Pilz *Psilocybe semperviva* HEIM et CAILLEUX bei der Biosynthese des Psilocybins das Tryptophan in 4-Stellung hydroxyliert. Dieser Basidiomycet besitzt demnach ein Enzymsystem, das befähigt ist, im Indolringsystem eine Hydroxygruppe an einer Stelle einzuführen, die sonst bei allen andern bisher in der Natur gefundenen Indolverbindungen unsubstituiert ist, ausgenommen bei den Mutterkornalkaloiden und nach neueren Untersuchungen auch bei Bufothionin und Dehydrobufotenin<sup>4)</sup>, sowie bei gewissen *Mitragyna*-Alkaloiden<sup>5)</sup>.

Es schien uns interessant, zu prüfen, ob der *Psilocybe*-Pilz die ihm fremden Mutterkornalkaloide oxydativ verändern kann, obschon hier die 4-Stellung im Indolkern bereits substituiert ist. In der vorliegenden Mitteilung wird nun nachgewiesen, dass die beiden Hauptalkaloide der Clavin-Gruppe Elymoclavin und Agroclavin durch den *Psilocybe*-Pilz hydroxyliert werden, und zwar in der 8-Stellung des Ergolinsystems.

*Versuche mit Elymoclavin und mit Agroclavin.* Wird einer *Psilocybe*-Kultur mit vollentwickeltem Mycel Elymoclavin zugesetzt, dann nimmt der kolorimetrisch be-

<sup>1)</sup> 51. Mitt. über Mutterkornalkaloide: W. SCHLIENTZ, R. BRUNNER, A. HOFMANN, B. BERDE, E. STÜRMER, Pharm. Act. Helv. 36, 472 (1961).

<sup>2)</sup> Zusammenfassende Übersicht: CH. TAMM, Planta Medica 8, 331 (1960).

<sup>3)</sup> A. BRACK, F. HOFMANN, F. KALBERER, H. KOBEL & J. RUTSCHMANN, Arch. Pharm. 294, 230 (1961).

<sup>4)</sup> B. ROBINSON, G. F. SMITH, A. H. JACKSON, D. SHAW, B. FRYDMAN & V. DEULOFEU, Proc. chem. Soc. London, 1961, 310.

<sup>5)</sup> J. B. HENDRICKSON, Chemistry & Ind. 1961, 713.