

310. Oxydationsprodukte von 6-Hydroxy-dopamin

von P. A. Wehrli^{a)}, F. Pigott^{a)}, U. Fischer^{b)} und A. Kaiser^{b)}

a) Chemical Research Department, *Hoffmann-La Roche Inc.*, Nutley, New Jersey, USA

b) Chemische Forschungsabteilung der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel

(9. 10. 72)

Zusammenfassung. 6-Hydroxy-dopamin (2,4,5-Trihydroxyphenäthylamin) (**1**) wird durch Sauerstoff oder durch *Frémy*-Salz nahezu quantitativ zu einem dunkelroten Chinon oxydiert, das sich in gelbe Hydrohalogenide überführen lässt. Das wahrscheinlich als Zwitterion **2** vorliegende Chinon ist in kristalliner Form stabil. In schwach alkalischer Lösung lagert es sich in 5,6-Dihydroxy-indol (**4**) um. Alkalische Reduktion führt u.a. zu 5,6-Dihydroxy-indolin, während unterhalb pH 7 hauptsächlich 6-Hydroxy-dopamin (**1**) zurückgebildet wird.

Unter den Phenäthylaminen nimmt 6-Hydroxy-dopamin (**1**) insofern eine Sonderstellung ein, als es nicht nur von den sympathischen Nervenendigungen aufgenommen wird [1], sondern in höheren Dosen sie zerstört [2]. Man nimmt an, dass bei dieser "chemischen Sympathektomie" [3] Oxydationsprodukte von **1** eine Rolle spielen.

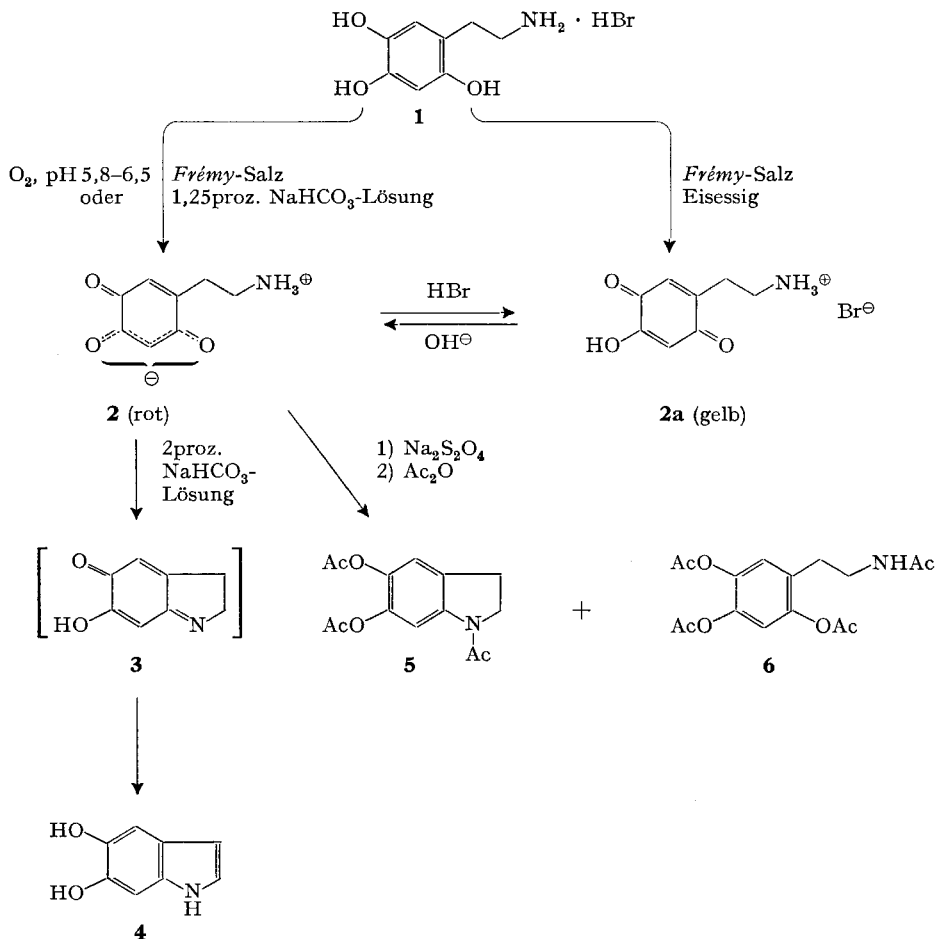
Es ist uns gelungen, solche Produkte zu isolieren und einige ihrer Eigenschaften zu untersuchen.

Leitet man in eine eiskalte Lösung von 6-Hydroxy-dopamin-hydrobromid Sauerstoff ein und hält durch Zugabe von Alkali die Lösung bei pH 5,8–6,5, so fallen feine purpurrote Nadeln aus, deren Elementaranalyse die Summenformel $C_8H_9NO_3$ liefert. Bei dieser Reaktion wird 1 Mol-Äqu. Base verbraucht und nicht ganz ein Mol O_2 aufgenommen. Die Ausbeute ist praktisch quantitativ. Daneben wird H_2O_2 gebildet.

Die Oxydation von **1** in schwach alkalischem Milieu mit *Frémy*-Salz führt zur selben Verbindung.

Das so erhaltene Produkt ist in Wasser und neutralen organischen Lösungsmitteln sehr schwer löslich, dagegen leicht in Säuren und in wässrigem Alkali. Die Lösungen sind jedoch nicht stabil. Vielmehr tritt eine Umlagerung (s.u.) bzw. Zersetzung in bisher nur teilweise identifizierte Produkte ein, und zwar um so schneller, je höher das pH der Lösung ist.

Das NMR.-Spektrum (DMSO, *Fourier*-Transformation) zeigt die beiden aromatischen Protonen bei 6,12 und 4,96 ppm sowie die Äthylenprotonen bei 2,96 und 2,50 ppm. Die NH-Protonen geben ein breites Signal um 7,89 ppm. In CF_3CO_2D erscheinen die beiden aromatischen Protonen bei 6,34 bzw. 6,91 ppm und die Äthylenprotonen bei 2,9–3,22 und 3,3–3,85 ppm. Die NH_3^+ - bzw. OH-Protonen ergeben eine breite Absorption um 7,05 ppm. Das bei 6,34 ppm absorbierende Proton wird relativ rasch gegen D ausgetauscht, während das andere aromatische Proton lange Zeit praktisch unverändert bleibt. Von *Adams et al.* [4] wird das Verschwinden des aromatischen Protons der allmählichen Bildung melaninartiger Produkte zugeschrieben. Dagegen spricht jedoch, dass auch bei 4-Hydroxytoluchinon das bei 6,33 ppm absorbierende Proton gegen Deuterium austauscht, während das der Methylgruppe benachbarte (6,79 ppm, $J = 1,8$ Hz) unverändert bleibt.



Das Massenspektrum ergibt, wie häufig bei Chinonen, den Molekularpik der hydrierten Form mit m/e 169 (25). Dem Basispik mit m/e 149 kann die Struktur des cyclischen Chinonimins **3** zugeordnet werden. Weitere Fragmente sind m/e 140 (50) und 103 (28).

Im IR.-Spektrum erscheint die längstwellige Carbonylbande bei 1665 cm^{-1} .

Die UV.-Daten sind in der Tabelle zusammengefasst. Zum Vergleich sind die entsprechenden Daten von 4-Hydroxytoluchinon mitaufgeführt.

		in Wasser (pH 7)	in NaHCO_3 (0,01 N)	in HCl (0,01 N)
Chinon 2	λ_{max} (nm)	268/495	269/496	263/387
	ϵ_{max}	10400/1800	10500/1800	16300/1350
4-Hydroxytoluchinon	λ_{max} (nm)	272/495	273/490	262/386
	ϵ_{max}	10500/1600	10800/1700	18500/650

Die spektroskopischen Daten sind mit der Struktur eines 2-(2-Aminoäthyl)-5-hydroxy-benzochinons ohne weiteres vereinbar. Unter Berücksichtigung der roten Farbe, des hohen Zersetzungspunktes (ab 148°) und der Schwerlöslichkeit des Oxydationsproduktes in Wasser und organischen Lösungsmitteln ist jedoch die zwitterionische Struktur **2** vorzuziehen (vgl. auch *Adams et al.* [4]).

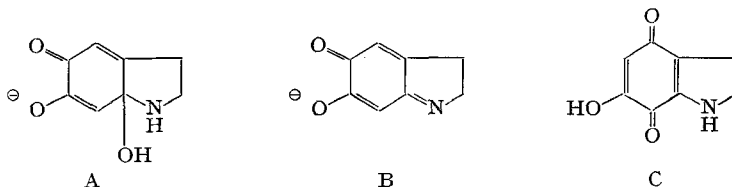
Bei der Reaktion von **1** · HBr mit *Frémy*-Salz in Eisessig wird ein gelbes, kristallines Produkt gebildet, das auch bei der Behandlung des Chinons **2** mit HBr in Isopropylalkohol entsteht; wir schreiben ihm auf Grund seiner Eigenschaften die Struktur **2a** zu. Ein entsprechendes Hydrochlorid kann aus **2** mit Hilfe von HCl in Eisessig hergestellt werden.

Verdünte Lösungen des Chinons **2** (0,003M) in Hydrogencarbonat ergeben nach 24 Std. bei Raumtemperatur 5,6-Dihydroxy-indol (**4**), welches schon von *Harley-Mason* [5] aus **1** durch Ferricyanid-Oxydation erhalten wurde¹⁾.

Reduziert man das Chinon **2** in alkalischer Lösung mit Dithionit und acetyliert das Reaktionsprodukt, so isoliert man neben wenig Tetraacetyl-6-hydroxy-dopamin (**6**) in Ausbeuten bis zu 10% das von *Piattelli et al.* [7] bereits beschriebene 5,6-Diacetoxy-1-acetyl-indolin (**5**).

Bei neutralem oder schwach saurem pH geht die Ausbeute an cyclisiertem Produkt stark zurück, dafür entsteht bis zu 70% Tetraacetyl-6-hydroxy-dopamin (**6**).

Da das Indolinderivat **5** unter unseren Reaktionsbedingungen kaum durch Reduktion des entsprechenden Indols **4** gebildet werden kann, muss man annehmen, dass das Anion von **2** teilweise in einer der cyclischen Formen **A** oder **B** vorliegt.



Unsere Resultate stimmen mit den Befunden von *Adams et al.* [4] und *Harley-Mason* [5] (siehe oben) überein. *Adams et al.* [4] kamen auf Grund elektrochemischer Untersuchungen sowie von ESR-, NMR.- und UV.-Daten zu dem Ergebnis, dass die Oxydation von 6-Hydroxy-dopamin im Bereich von pH 6–8 nur bis zu dem Chinon **2** führt.

Dagegen konnten auch wir keinerlei Anhaltspunkte für die von *Senoh & Witkop* [8] an Hand von UV.-Spektren postulierte Bildung des Indolinochinons **C** finden.

Ob allerdings das Chinon **2** oder 5,6-Dihydroxy-indol für die biologische Wirkung von 6-Hydroxy-dopamin von Bedeutung sind, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Experimenteller Teil

Die Smp. sind nicht korrigiert. Die UV.-Spektren wurden mit einem *Perkin-Elmer* 402 Spektrophotometer, die IR.-Spektren mit einem *Beckman*-IR.-9, die NMR.-Spektren mit einem *Varian* A-60 Spektrometer (Tetramethylsilan als innerer Standard) und die Massenspektren mit

¹⁾ Nach Beendigung des Manuskriptes erschien eine Arbeit von *Adams et al.* [6], in der ebenfalls die Bildung von 5,6-Dihydroxy-indol (**4**) bei der Oxydation von 6-Hydroxy-dopamin (**1**) beschrieben wird.

einem MS-9 der Firma *AEI*, Manchester, aufgenommen. Das *Fourier*-NMR.-Spektrum wurde auf einem *Bruker* Spektroskop HX-90 gemessen.

Für die UV.-Spektren wurden die Lösungen jeweils unmittelbar vor der Aufnahme hergestellt.

Für die Massenspektren von **2** und **2a** erfolgte Verdampfung direkt in die Ionenquelle. Ionenquellentemperatur 180°; Ionisierungsspannung 70 eV.

Für die Aufnahme und Diskussion der Spektren sowie für die Ausführung der Mikroanalysen danken wir unseren physikalischen Abteilungen.

2-(2-Aminoäthyl)-5-hydroxy-p-benzochinon (2) (rotes Chinon). a) *Durch Oxydation von 1 mit Sauerstoff.* – Eine Lösung von 10 g (0,04 Mol) 6-Hydroxy-dopamin-hydrobromid (**1**) [9] in 200 ml Wasser wird auf 2° abgekühlt und durch Zugabe von 2N Kalilauge auf pH 6,5 gebracht. Dann wird unter Eiskühlung ein kräftiger Sauerstoffstrom durch die Lösung geblasen, wobei deren pH durch Zugabe von 2N Kalilauge zwischen 5,8 und 6,5 gehalten wird. Die Lösung färbt sich sofort tiefrot, und nach einiger Zeit scheidet sich das Chinon kristallin ab. Sobald das pH nicht mehr absinkt, wird die Reaktion abgebrochen. Die Kristalle werden abfiltriert, 2mal mit je 100 ml eiskaltem Wasser, dann mit Äthanol und zuletzt mit Äther gewaschen. Nach Trocknen bei 25°/0,01 Torr werden 6,2 g (92%) **2** erhalten. Zersetzungspunkt: 148°.

$C_8H_9NO_3$ (167,16) Ber. C 57,48 H 5,43 N 8,38% Gef. C 57,18 H 5,36 N 8,28%

b) *Durch Oxydation von 1 mit Frémy-Salz in alkalischer Lösung.* Eine Lösung von 21,44 g (0,08 Mol) *Frémy*-Salz in 1000 ml einer 1,25proz. Natriumhydrogencarbonatlösung wird auf einmal zu einer Lösung von 10 g (0,04 Mol) 6-Hydroxy-dopamin-hydrobromid in 60 ml destilliertem Wasser gegeben, wobei sofort ein dunkelroter Niederschlag ausfällt. Es wird noch 2 Min. weitergerührt, dann werden die Kristalle abfiltriert, nacheinander mit eiskaltem Wasser, Äthanol und Äther gewaschen und bei 25°/0,01 Torr getrocknet; es werden 4,25 g (63%) **2** erhalten.

2-(2-Aminoäthyl)-5-hydroxy-p-benzochinon-hydrobromid (2a) (gelbes Chinon). a) *Durch Oxydation von 6-Hydroxy-dopamin-hydrobromid (1) mit Frémy-Salz in Essigsäure.* – Zu einer Suspension von 1 g (0,004 Mol) 6-Hydroxy-dopamin-hydrobromid in 55 ml 90proz. Essigsäure werden unter Rühren im Verlauf von 2 Std. 4,8 g (0,018 Mol) Kaliumnitrosodisulfonat in 12 Portionen zugegeben. Das anorganische Material wird dann abfiltriert und das klare gelbe Filtrat bei 30° im Vakuum eingedampft. Die letzten Lösungsmittelsreste werden im Hochvakuum entfernt. Der gelbe Rückstand wird mit Isopropylalkohol digeriert, filtriert und das klare gelbe Filtrat wieder eingedampft. Wiederholte Behandlung mit Isopropylalkohol/Essigester liefert ein gelbes, amorphes Produkt, das mit dem unter b) beschriebenen identisch ist.

b) *Aus 2.* 4,25 g (0,025 Mol) **2** werden in einer Lösung von 3,24 g (0,04 Mol) wasserfreier HBr in 75 ml Isopropylalkohol 90 Min. unter Eiskühlung gerührt. Das gelbe Reaktionsprodukt wird dann abfiltriert, mit Isopropylalkohol und Äther gewaschen und bei 25°/0,01 Torr getrocknet: 5,73 g (90%) **2a**. Smp. 180–181° (Zers.). Die UV.-Spektren von **2a** sind mit denen von **2** identisch. Im IR.-Spektrum (KBr) liegen die Carbonylbanden bei 1677 und 1648 cm^{-1} .

NMR.-Spektrum (DMSO): δ 2,71 (*t*, breit, *J* ~ 7 Hz, 2 H); 2,99 (*t*, breit, *J* ~ 7 Hz, 2 H); 5,99 (*s*, 1H); 6,70 (*s*, 1H); 8,0 (*s*, breit, 3 H); 11,1 (breit, 1H).

MS.: (*m/e*) 169 (10) ("Hydrochinon"), 149 (100), 140 (20), 103 (34).

$C_8H_9NO_3 \cdot HBr$ Ber. C 38,73 H 4,06 N 5,65 Br 32,21%
(248,08) Gef. ,, 38,56 ,, 4,07 ,, 5,46 ,, 32,24%

2-(2-Aminoäthyl)-5-hydroxy-p-benzochinon-hydrochlorid. 9 g (0,054 Mol) **2** werden in einem auf 5° abgekühlten Gemisch von 30 ml 2N wässriger Salzsäure und 600 ml Eisessig suspendiert. Man rührt die Suspension 12 Std. bei 5°, filtriert die gelben Kristalle ab, wäscht nacheinander mit Eisessig und Äther und trocknet 24 Std. bei 25°/0,01 Torr: 5,8 g (53%). Zers. ab 175°.

$C_8H_9NO_3 \cdot HCl$ Ber. C 47,19 H 4,95 N 6,88 Cl 17,41%
(203,63) Gef. ,, 46,91 ,, 4,67 ,, 6,73 ,, 17,41%

5,6-Dihydroxy-indol (4). Zu einer Lösung von 1 g (0,004 Mol) 6-Hydroxy-dopamin-hydrobromid in 500 ml Wasser wird in einer Stickstoffatmosphäre unter Rühren eine Lösung von 30 g Natriumhydrogencarbonat und 2,144 g (0,008 Mol) *Frémy*-Salz in 1000 ml Wasser im Verlauf von

15 Min. zugegeben. Die rotbraune Lösung wird anschliessend mit Wasserstoff gespült und 25 Std. bei Raumtemperatur gehalten. Das Reaktionsprodukt wird dann mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Eindampfen bleiben 339 mg schwach rosa gefärbter fester Rückstand.

Zur Analyse wurde das Produkt in Essigester gelöst, über Silicagel filtriert und dann i. H.V. sublimiert. Smp. 130–131° (Zers.). NMR. (DMSO): δ 6,11 (*t*, breit, 1H); 6,75 (*s*, 1H); 6,81 (*s*, 1H); 6,96 (*t*, $J \sim 3$ Hz, 1H); 8,08 (*s*, 1H); 8,34 (*s*, 1H); 10,36 (*s*, breit, 1H).

MS. (*m/e*): 149 (M^+), 103 (29).

Die IR.- und UV.-Spektren stimmen mit den von *Benigni & Minnis* [10] angegebenen Daten überein.

Reduktion von 2 mit Natriumdithionit. a) *Tetraacetyl-6-hydroxy-dopamin* (**6**). 6,68 g (0,04 Mol) **2** werden in einer Lösung von 8,5 g (0,044 Mol) Natriumdithionit in 100 ml Wasser suspendiert. Man tropft anschliessend in einer Argonatmosphäre unter Rühren 45 ml 1N Kalilauge im Verlauf von 30 Min. bei 0–5° zu, rührt noch 30 Min. unter Eiskühlung weiter und tropft 50 ml Acetanhydrid zu, indem durch gleichzeitige Zugabe von 4N Natronlauge das pH der Lösung zwischen 6 und 8 gehalten wird. Nach 1 Std. wird die Lösung mit Natriumchlorid gesättigt und dann 2mal mit je 500 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Auszüge werden über Natriumsulfat getrocknet und dann i.V. eingedampft. Der rote, ölige Rückstand wird in 200 ml Acetanhydrid aufgenommen, 30 Min. auf 80° erwärmt und dann i.V. eingedampft. Der Rückstand wird in 100 ml Essigester mit Aktivkohle behandelt, wieder eingedampft und aus Essigester/Äther umkristallisiert. Man erhält 5,7 g (42%) reines **6**, Smp. 124–126°. Aus der Mutterlauge lassen sich nach Chromatographie an Silicagel weitere 3,6 g (27%) **6** isolieren. Das so erhaltene Material ist mit einem aus 6-Hydroxy-dopamin (**1**) durch konventionelle Acetylierung erhaltenen Produkt identisch.

$C_{18}H_{19}NO_7$ (337,32) Ber. C 56,97 H 5,68 N 4,15% Gef. C 57,00 H 5,64 N 4,02%

b) *1-Acetyl-5,6-diacetoxy-indolin* (**5**). Zu einer Suspension von 6,68 g (0,04 Mol) **2** in 1000 ml Wasser werden in einer Argonatmosphäre unter Rühren bei 5–10° im Verlauf von 2 Std. gleichzeitig eine Lösung von 8,5 g (0,044 Mol) Natriumdithionit in 100 ml Wasser und 2N Kalilauge so zuge tropft, dass das pH der Lösung immer zwischen 8,7 und 9,2 bleibt. Anschliessend wird noch 30 Min. weitergerührt, dann mit Eisessig auf pH 4,2 angesäuert und i.V. eingedampft. Der orangefarbene, ölige Rückstand wird mit 250 ml Essigsäureanhydrid 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die tiefbraune Lösung wird dann i.V. eingedampft und der Rückstand zwischen Wasser und Chloroform verteilt. Die organische Phase wird nach Trocknen über Natriumsulfat i.V. eingedampft. Das zurückbleibende braune Öl liefert beim Digerieren mit Essigester 0,7 g (6%) **5** als farblose Kristalle vom Smp. 225–226°. (Lit. [7] 223–225°). Aus der Mutterlauge können durch Chromatographie an Silicagel weitere 0,5 g (4%) **5** isoliert werden. Die Spektren sind mit den von *Piattelli et al.* [7] angegebenen identisch.

$C_{14}H_{16}NO_5$ (272,27) Ber. C 60,66 H 5,45 N 5,05% Gef. C 60,60 H 5,46 N 4,98%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *R. A. Cohen, I. J. Kopin, C. R. Creveling, J. M. Musacchio, J. E. Fischer, J. R. Crout & J. R. Gill Jr.*, Ann. intern. Medicine 65, 347 (1966).
- [2] *J. P. Tranzer & H. Thoenen*, Experientia 24, 155 (1968).
- [3] *A. Saner & H. Thoenen* in «6-Hydroxy-dopamine and Catecholamine Neurons», S. 265–275. *T. Malmfors & H. Thoenen*, Ed., North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London 1971.
- [4] *R. N. Adams, E. Murrill, R. McCreery, L. Blank & M. Karolczak*, Eur. J. Pharmacology 17, 287 (1972).
- [5] *J. Harley-Mason*, J. chem. Soc. 1953, 200.
- [6] *C. L. Blank, P. T. Kissinger & R. N. Adams*, Eur. J. Pharmacology 19, 391 (1972).
- [7] *G. Piattelli Oriente, S. Sciuto & M. Piattelli*, Gazz. chim. ital. 100, 693 (1970).
- [8] *S. Senoh & B. Witkop*, J. Amer. chem. Soc. 81, 6231 (1959).
- [9] *P. A. Wehrli & F. Pigott*, Can. J. Chemistry, in Vorbereitung.
- [10] *J. D. Benigni & R. L. Minnis*, J. heterocycl. Chemistry 2, 387 (1965).