

1601. Horst Böhme und Theodor Severin

Optische Untersuchungen an Cumarinen

2. Mitteilung: Die Ultraviolettabsorption von Mono-oxy-cumarinen und ihren Abkömmlingen

Aus dem Pharmazeutisch-chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

(Eingegangen am 18. Februar 1957)

Wir haben kürzlich über die Ultraviolettabsorption von Cumarin sowie Cumarinsäure, Cumarinsäure und ihren Abkömmlingen berichtet¹⁾. Es interessierte nun weiter das optische Verhalten der im Benzolkern durch eine Hydroxylgruppe substituierten Cumarine und ihrer analogen Derivate. Von diesen ist 7-Oxycumarin als Naturstoff Umbelliferon gefunden worden²⁾, während die drei übrigen synthetisch dargestellt wurden; 6-Oxycumarin schon vor längerer Zeit³⁾, 5- und 8-Oxycumarin bereits im Hinblick auf diese Untersuchung⁴⁾. Die Spektren von 5-, 6- und 7-Oxycumarin sind in der Zwischenzeit bereits von japanischen Autoren gemessen worden⁵⁾, über 8-Oxycumarin konnten wir keine Angaben finden.

In den Abb. 1—4 sind die Absorptionsspektren der vier Monooxycumarine wiedergegeben. Während die langwellige Absorptionsbande des Cumarins durch Einführung der Oxygruppe in 6- oder 7-Stellung bathochrom verschoben wird, liegt das entsprechende Maximum des 5- und 8-Oxycumarins bei kürzeren Wellenlängen. Wie bei dem Grundkörper treten auch bei 5-, 6- und 8-Oxycumarin insgesamt drei Banden auf. Bei 7-Oxycumarin ist jedoch eine mittlere Bande nicht erkennbar, nur bei etwa 240 m μ ist eine Inflexion sichtbar.

Anschließend wurden von den vier Mono-oxy-cumarinen die zum Teil bisher nicht bekannten Analoga der Cumarsäure bzw. Cumarinsäure sowie deren Methyläther hergestellt, auch ihre Absorptionsspektren gemessen und in den Abb. 1—4 gegenübergestellt. Man erkennt beim Vergleich, daß die Dioxy-*trans*-zimtsäuren und ihre methylierten Derivate optisch recht ähnlich sind. Größere Unterschiede sind hingegen vorhanden gegenüber den Oxycumarinen auf der einen und den Dimethoxy-*cis*-zimtsäuren auf der anderen Seite. Auffallend ist der stets gleichgerichtete Unterschied bei den Isomeren; die Dioxy-*trans*-zimtsäure und ihre Abkömmlinge absorbiert stets langwelliger und intensiver als die zugehörige Dimethoxy-*cis*-zimtsäure. Insgesamt ergibt sich also ein analoges Bild wie beim Grundkörper.

Am Beispiel der Cumarsäure und Cumarinsäure war früher gezeigt worden, daß die Dissoziation der Carbonylgruppe einen hypsochromen Effekt bedingt, daß

¹⁾ H. Böhme und Th. Severin, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 290, 285 (1957).

²⁾ C. Sommer, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 148, 1 (1859); C. Zwenger, Liebigs Ann. Chem. 115, 17 (1860).

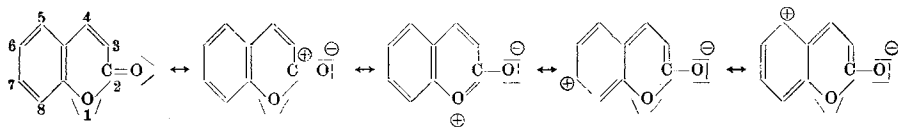
³⁾ H. v. Pechmann und W. Welsh, Ber. dtsch. chem. Ges. 17, 1646 (1884).

⁴⁾ H. Böhme, Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 2130 (1939); 5-Oxycumarin ist unabhängig und auf anderem Wege auch von H. A. Shah und R. C. Shah, Current Sci. 7, 107 (1938) dargestellt worden.

⁵⁾ T. Nakabayashi, T. Tokoroyama, H. Miyazaki und S. Isono, J. pharmac. Soc. Japan 73, 669 (1953).

andererseits die in stark alkalischer Lösung erfolgende Bildung des Phenolat-anions sich jedoch stark bathochrom auswirkt. Geprüft wurde nun, ob die Oxy-cumarine sich ähnlich verhalten, doch zeigte sich, daß ihre Lösungen in 0,1 n-Lauge nicht beständig sind. Besonders gilt dies für 6- und 8-Oxycumarin, wo bei der Aufspaltung des Laktonringes Hydrochinon- bzw. Brenzcatechin-Abkömmlinge entstehen, die außerordentlich leicht oxydabel sind; auch wenn zuvor längere Zeit Stickstoff durch Oxycumarinlösung sowie Lauge geleitet worden war, ließ sich beim anschließenden Vermischen und Messen der Luftsauerstoff nicht so weit fernhalten, daß nicht doch irreversible Änderungen des Spektrums nach dem kurze Zeit später erfolgten Ansäuern festzustellen waren. Günstiger sollten die Verhältnisse beim 7-Oxycumarin liegen, da die bei dessen Spaltung entstehende Dioxyzimtsäure nicht durch Oxydation in ein chinoides System übergehen kann. Aber auch hier treten bei längerem Stehenlassen irreversible Veränderungen ein. Läßt man z. B. eine $0,5 \cdot 10^{-3}$ -molare Lösung von 7-Oxycumarin in 0,1 n-Natronlauge einen Tag lang stehen, säuert dann an und mißt das Spektrum, so erhält man eine Kurve, die sich von der einer unbehandelten 7-Oxycumarin-Lösung beträchtlich unterscheidet. Es handelt sich, wie aus den entsprechenden Spektren ersichtlich ist, nicht um die Bildung eines Gemisches von Umbelliferon und Umbellsäure, sondern es sind in starkem Maße weitere Umsetzungen eingetreten. Bei einstündiger Einwirkung von Alkali sind die Veränderungen der Absorption hingegen nur unbedeutend und das Spektrum einer frisch hergestellten, alkalischen Lösung spricht dafür, daß zunächst nur das Phenolat mit noch intaktem Laktonring vorliegt; erst in dem Maße wie dieser allmählich geöffnet wird, ändert sich das Spektrum durch irreversible Veränderungen des entstehenden Zimtsäurederivates.

Im Vergleich zu Cumarin sowie 6- und 8-Oxycumarin scheint 7-Oxycumarin sehr viel langsamer hydrolysiert zu werden, was auch theoretisch gut zu verstehen ist. Das Hydroxylanion wird an der Carbonylgruppe des Laktonringes angreifen; die Leichtigkeit, mit der dies geschieht, hängt von dem ungesättigten Charakter des Carbonylkohlenstoffs ab und dieser wieder von der Tendenz des Sauerstoffs, die Doppelbindungselektronen zu sich herüberzuziehen. Ringsauerstoffatom und Benzolkern haben ihrerseits die Tendenz, die Elektronenlücke am Kohlenstoff aufzufüllen, wie dies durch folgende mesomeren Grenzformeln veranschaulicht wird:



Ist nun in 7-Stellung eine Phenolatgruppe vorhanden, wie bei 7-Oxycumarin in alkalischer Lösung, so ist die der vierten Grenzformel analoge Struktur besonders stabil. Dadurch ist der ungesättigte Charakter des Carbonylkohlenstoffs zum Teil aufgehoben und der Angriff des Hydroxylions wird erschwert. Analoges gilt für 5-Oxycumarin, jedoch nicht für 6- und 8-Oxycumarin, die deshalb durch Alkali leicht spaltbar sein sollten, was in Übereinstimmung mit den experimentellen Befunden steht.

Um die Schwierigkeiten zu umgehen, die bei der Untersuchung der Oxycumarine in wäßrig-alkalischen Lösungen auftreten, haben wir anschließend im alkoholischen

Medium gearbeitet. Versetzt man eine Lösung von Cumarin in abs. Äthanol mit einer Lösung von Natriumäthylat, so verläuft die Aufspaltung des Laktonringes sehr viel langsamer als mit wäßriger Lauge. Man erhält nach Herstellung der Lösung zunächst eine dem Cumarin sehr ähnliche Absorptionskurve, die sich erst nach mehreren Stunden deutlich ändert. Es war deshalb zu erwarten, daß auch bei den Oxycumarinen die Aufspaltung des Laktonringes durch Alkoholat sehr langsam verläuft. Gemessen wurden 10^{-3} -molare Lösungen der Oxycumarine in 0,1n-methanol. Natriummethylat-Lösung. Die erhaltenen Kurven veränderten sich innerhalb einiger Stunden nicht meßbar. Bei 5- und 7-Oxycumarin wurden noch nach 24 Stunden gleiche Extinktionen gemessen. Bei 6- und 8-Oxycumarin lagen hingegen die Abweichungen nach einer Stunde noch innerhalb der Fehlergrenze, nach 24 Stunden waren jedoch deutliche Veränderungen erkennbar.

Wenn man annimmt, daß der Laktonring unter diesen Bedingungen zunächst nicht aufgespalten wird und nur das Phenolat vorliegt, so ist das zeitlich verschiedene Verhalten gut zu verstehen. Bei 5- und 7-Oxycumarin ist nach 24 Stunden der Laktonring noch praktisch unangegriffen, während nach dieser Zeit bei 6- und 8-Oxycumarin eine teilweise Aufspaltung eingetreten ist. Dies steht in bester Übereinstimmung mit den obigen Ausführungen über die Geschwindigkeit der Aufspaltung des Laktonringes in Abhängigkeit von der Stellung der Hydroxylgruppen am Benzolkern. Mit Hilfe dieser Auffassung ist auch zu verstehen, daß die Lösung der Oxycumarine in alkoholathaltigem Alkohol gegen die Einwirkung von Luft-sauerstoff weitgehend stabil sind. Wäre der Laktonring geöffnet, so sollte man in Analogie zu den Lösungen in wäßrigem Alkali erwarten, daß auch die Alkoholatlösungen außerordentlich empfindlich sind.

Auch das Verhalten dieser Lösungen im Licht deutet in gleiche Richtung. Wie früher beschrieben¹⁾ erleidet das Natriumsalz der Cumarinsäure schon im diffusen Tageslicht sehr leicht eine Umwandlung in die *trans*-Form. Ein gleiches Verhalten zeigen, wie hier vorausgenommen sei, auch die Natriumsalze der o-Oxy-*cis*-zimtsäuren, die in 3-, 4-, 5- und 6-Stellung durch Methoxygruppen substituiert sind. Die Lösungen der Oxycumarine in methanol. Methylatlösung werden hingegen im Licht nicht verändert; wenn der Laktonring noch geschlossen ist, kann ja eine *cis-trans*-Umlagerung auch nicht eintreten.

Daß auch, wie oben vermutet, bei der Einwirkung von wäßriger Natronlauge auf 7-Oxycumarin der Laktonring nur langsam aufgespalten wird und zunächst lediglich das Phenolat entsteht, wird durch die Absorptionskurve einer solchen Lösung bestätigt, die der einer Lösung von 7-Oxycumarin in methanol. Natriummethylat-Lösung sehr ähnlich ist. Analoge Untersuchungen lehrten, daß 6- und 8-Oxycumarin im Gegensatz zum 7-Oxycumarin rasch hydrolysiert werden.

Betrachtet man im Zusammenhang die in den Abb. 1—4 gleichfalls eingezeichneten Farbkurven der besprochenen Phenolate mit denen der entsprechenden Oxycumarine, so ist in allen Fällen deren sehr viel langwelligere Absorption auffallend. Beim Phenolat des 8-Oxycumarins (Abb. 4) ist die Absorption an der Stelle des langwelligsten Maximums allerdings relativ schwach.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglichte diese Untersuchung durch Überlassung eines Zeiß-Spektral-Photometers als Leihgabe.

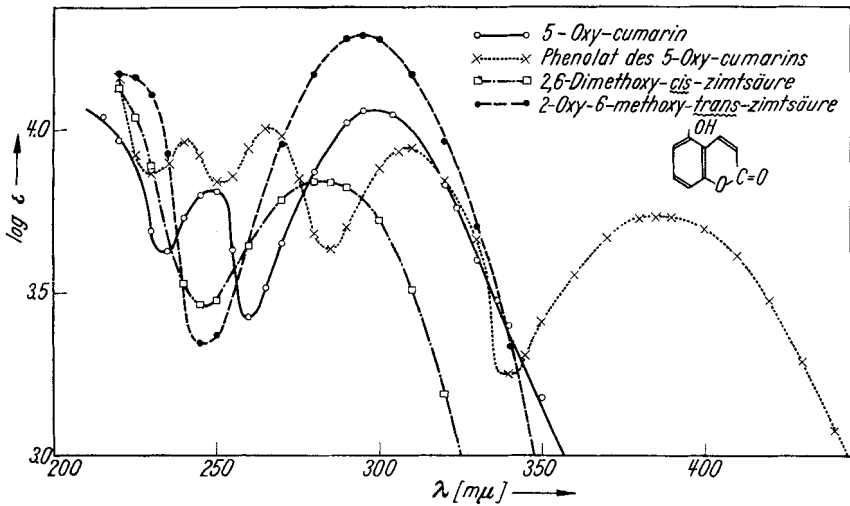


Abb. 1. Ultraviolettabsorption methanol. Lösungen von 5-Oxy-cumarin und seinen Derivaten

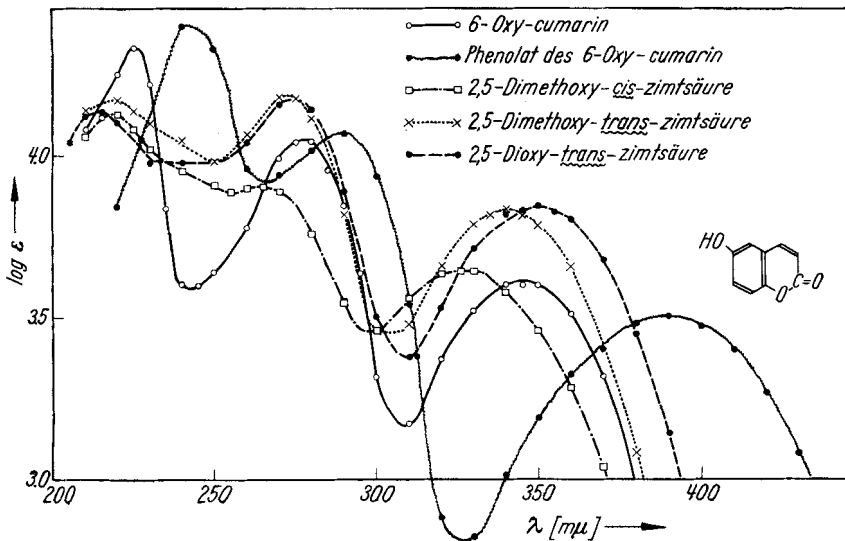


Abb. 2. Ultraviolettabsorption methanol. Lösungen von 6-Oxy-cumarin und seinen Derivaten

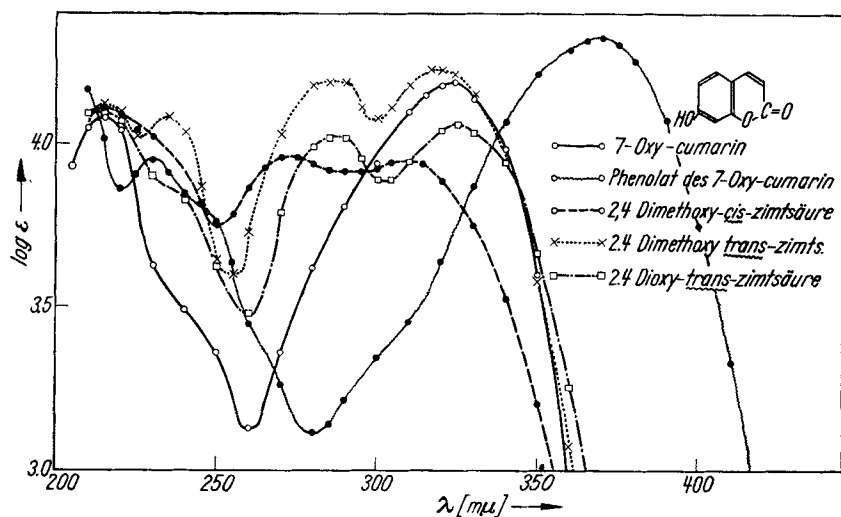


Abb. 3. Ultraviolettabsorption methanol. Lösungen von 7-Oxy-cumarin und seinen Derivaten

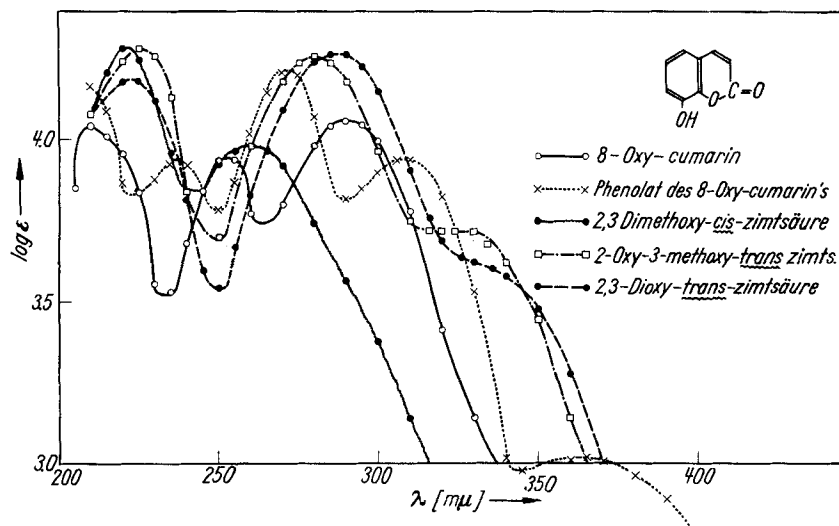


Abb. 4. Ultraviolettabsorption methanol. Lösungen von 8-Oxy-cumarin und seinen Derivaten

Beschreibung der Versuche

5-Oxy-cumarin

Dargestellt nach *H. Böhme*⁴⁾, Schmp. 229° nach Umkristallisieren aus verd. Alkohol und Sublimieren bei 10⁻³ Torr aus einem Luftbad von 170—180°.

5-Methoxy-cumarin: 320 mg 5-Oxycumarin werden mit einer Lösung von 46 mg Natrium in 10 ml Methanol und 1,5 g Methyljodid 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird tropfenweise verd. Schwefelsäure bis zur Entfärbung zugefügt, sodann 70 ml Wasser. Das sich abscheidende Öl erstarrt nach Verdunsten des überschüssigen Methyljodids zu einer farblosen kristallinen Masse, die wiederholt aus Wasser umkristallisiert wird. Schmp. 85° in Übereinstimmung mit *H. A. Shah* und *R. C. Shah*⁶⁾, die diese Verbindung auf anderem Wege darstellten, Ausbeute 140 mg (40% d. Th.).

2, 6-Dimethoxy-*cis*-zimtsäure: Hergestellt nach *H. A. Shah* und *R. C. Shah*⁶⁾, Schmp. 151° (aus Wasser).

2-Oxy-6-methoxy-*trans*-zimtsäure⁷⁾: 0,72 g 5-Methoxy-cumarin, 1,2 g kristallwasserhaltiges Natriumsulfit und 30 ml Wasser werden unter Rückfluß 3 Stdn. zum Sieden erhitzt. Dann werden 30 g Kaliumhydroxyd in 50 ml Wasser zugefügt und weitere 4 Stdn. erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit konz. Salzsäure angesäuert und wiederholt ausgeäthert, der Äther mit Wasser gewaschen und gesättigter Natrium-hydrogen-carbonat-Lösung ausgeschüttelt. Beim Ansäuern fällt ein schwach gefärbter Niederschlag aus, der mehrfach aus Wasser-Methanol umkristallisiert wird. Hellgelbe Kristalle, die zwischen 195 und 202° unter Zersetzung schmelzen, Ausbeute 0,53 g (67% d. Th.).

$C_{10}H_{10}O_4$ (194,2) Ber.: C 61,84 H 5,21 Gef.: C 61,81 H 5,35

6-Oxy-cumarin

Dargestellt nach *G. Bargellini* und *L. Monti*⁸⁾. Das Rohprodukt wurde zunächst einer fraktionierten Sublimation im Hochvakuum unterworfen und die ersten Anteile verworfen. Die aus einem Luftbad von 180° bei 10⁻³ Torr übergelassene Fraktion wurde durch Lösen in 0,1*n*-NaOH und Ausfällen mit Kohlendioxyd, zweimaliges Umkristallisieren aus Wasser unter Verwendung von Kohle und Resublimation im Hochvakuum gereinigt. Schmp. 249—250°.

2, 5-Dimethoxy-*cis*-zimtsäure: 1,6 g zuvor fein gepulvertes 6-Oxy-cumarin werden mit 2,0 g Natriumhydroxyd in 20 ml Wasser bis zur Lösung geschüttelt, anschließend sofort 1,5 g Dimethylsulfat zugesetzt, 2 Stdn. in der Kälte geschüttelt, dann zum Sieden erhitzt und 3,5 g Dimethylsulfat zugetropft. Nach insgesamt 1stündigem Kochen werden 2,0 g Natriumhydroxyd in wenig Wasser zugefügt und erneut 1 Std. gekocht. Nach dem Erkalten wird mit 25%iger Schwefelsäure angesäuert, das ausgefallene Rohprodukt wiederholt aus Wasser bei Gegenwart von Tierkohle umkristallisiert und schließlich die hellgelben, seidigen Nadeln bei 10⁻³ Torr aus einem Luftbad von 90° sublimiert. Schmp. 122°.

$C_{11}H_{12}O_4$ (208,2) Ber.: C 63,50 H 5,81 Gef.: C 63,48 H 5,60

2, 5-Dioxy-*trans*-zimtsäure: Hergestellt nach *O. Neubauer* und *L. Flatow*⁹⁾, hellgelbe Nadeln (aus Wasser), Schmp. 208° (unter Zersetzung).

$C_9H_8O_4$ (180,2) Ber.: C 60,00 H 4,48 Gef.: C 60,00 H 4,53

⁶⁾ Current Sci. 7, 107 (1938).

⁷⁾ Vgl. *W. Gruber*, Mh. Chemie 75, 14 (1944).

⁸⁾ Gazz. chim. ital. 45, I 96 (1915).

2, 5-Dimethoxy-*trans*-zimtsäure: Hergestellt nach O. Neubauer und L. Flatow⁹), hellgelbe Nadeln (aus Wasser), Schmp. 150°.

C₁₁H₁₂O₄ (208,2) Ber.: C 63,50 H 5,81 Gef.: C 63,68 H 5,53

7-Oxy-cumarin

Hergestellt nach H. v. Pechmann¹⁰), Schmp. 225° (aus Wasser).

2, 4-Dimethoxy-*cis*-zimtsäure: Hergestellt nach W. Will¹¹), Schmp. 139—140° (aus Methanol-Wasser).

2, 4-Dioxy-*trans*-zimtsäure: Hergestellt nach E. Posen¹²), gereinigt durch Lösen in Natrium-hydrogen-carbonat-Lösung, Ausfällen durch Zugabe verd. Schwefelsäure und Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle. Zersetzt sich zwischen 240 bis 260° ohne vorher zu schmelzen.

C₉H₈O₄ (180,2) Ber.: C 60,00 H 4,48 Gef.: C 59,86 H 4,43

2, 4-Dimethoxy-*trans*-zimtsäure: Hergestellt nach F. Tiemann und W. Will¹³), umkristallisiert aus Methanol-Wasser und aus einem Luftbad von 150—160° bei 10⁻³ Torr sublimiert. Schmp. 184°.

8-Oxy-cumarin

Dargestellt nach H. Böhme⁴), Schmp. 160° nach Umkristallisieren aus Wasser und Sublimieren aus einem Luftbad von 130° bei 10⁻³ Torr.

2, 3-Dimethoxy-*cis*-zimtsäure: 1,6 g 8-Methoxy-cumarin¹⁴) werden durch kurzes Kochen mit 2,0 g Natriumhydroxyd in 20 ml Wasser gelöst und in der Siedehitze innerhalb 1 Std. 3,7 g Dimethylsulfat zugetropft. Sodann werden 2,0 g Natriumhydroxyd in wenig Wasser zugesetzt, und weitere 30 Min. gekocht. Aus der nach dem Erkalten angesäuerten Lösung fällt ein Öl aus, das nach längerem Stehenlassen kristallisiert. Man pulvert und digeriert mit Natrium-hydrogen-carbonat-Lösung, aus dem angesäuerten Filtrat scheidet sich ein farbloser Niederschlag aus, der bei 10⁻³ Torr aus einem Luftbad von 100° destilliert wird. Schmp. 80°.

C₁₁H₁₂O₄ (208,2) Ber.: C 63,50 H 5,81 Gef.: C 63,32 H 5,82

2, 3-Dioxy-*trans*-zimtsäure: 1,6 g 8-Oxy-cumarin werden mit einer äquivalenten Menge Natriumsulfit in wäßriger Lösung unter Durchleiten eines schwachen Stickstoffstromes 1½ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Dann wird eine im Stickstoffstrom ausgekochte Lösung von 5,0 g Kaliumhydroxyd von 10 ml Wasser zugefügt und weitere 30 Min. unter Stickstoff gekocht. Nach dem Abkühlen auf 40° wird in 20 ml 38%ige Salzsäure gegossen und die sich abscheidenden Kristalle mehrfach aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Farblose, säbelförmig gebogene Kristalle, die bei 202° unter Aufschäumen schmelzen, nachdem bereits von 190° ab Zersetzung wahrzunehmen ist. In Laugen löst sich die Substanz unter tiefer Gelbfärbung, die beim Stehenlassen in Schmutziggelb übergeht. Ausbeute 0,7 g (39% d. Th.).

C₉H₈O₄ (180,2) Ber.: C 60,00 H 4,48 Gef.: C 59,84 H 4,52

2-Oxy-3-methoxy-*trans*-zimtsäure: Das nach B. B. Dey und V. A. Kutti¹⁵) durch Perkin-Reaktion aus 2-Oxy-3-methoxy-benzaldehyd, Essigsäureanhydrid und Na-

⁹) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 52, 391 (1907).

¹⁰) Ber. dtsch. chem. Ges. 17, 932 (1884).

¹¹) Ber. dtsch. chem. Ges. 16, 2115 (1883).

¹²) Ber. dtsch. chem. Ges. 14, 2745 (1881).

¹³) Ber. dtsch. chem. Ges. 15, 2080 (1882).

¹⁴) F. Mautner, J. prakt. Chem. [II], 152, 24 (1939).

triumacetat erhaltene Reaktionsprodukt wird mit 5%iger Natronlauge extrahiert und das Filtrat auf dem Wasserbad unter gelegentlichem Umschwenken erhitzt. Nach $1\frac{1}{2}$ Stdn. wird mit 25%iger Schwefelsäure angesäuert, nach dem Erkalten die schwach-gefärbten Kristalle abgesaugt und aus Wasser unter Verwendung von Tierkohle wiederholt umkristallisiert. Farblose Kristalle vom Schmp. $186^{\circ}16$).

$C_{10}H_{10}O_4$ (194,2) Ber.: C 61,84 H 5,21 Gef.: C 62,06 H 5,28

¹⁵⁾ Proc. nat. Inst. Sci. India 6, 641 (1940); C. A. 36, 83 (1942).

¹⁶⁾ Auf anderem Wege gewonnen von W. Borsche und P. Hahn-Weinheimer, Chem. Ber. 85, 201 (1952).

Anschrift: Prof. Dr. H. Böhme, Pharmazeutisch-chemisches Institut der Universität Marburg/Lahn.

1602. K.-H. Boltze und R. Laufke

Untersuchungen über die Isolierung von Convallatoxin

Aus dem Institut für Pharmakologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Direktor: Prof. Dr. med. habil. H. Hofmann

(Eingegangen am 8. März 1957)

Das Maiglöckchen (*Convallaria majalis* L.) ist ein altes Volksheilmittel. Über seine Bedeutung und Anwendung in der Therapie berichten W. von Brunn (1) und E. Schultes (2). In Form von Tinkturen wird es heute noch als Cardiacum und Diureticum verordnet. Eine rationelle Therapie erfordert aber das reine, kristallisierte Glykosid Convallatoxin. Dieses aus einheimischer Droge gewonnene herz-aktive Glykosid besitzt die Wirkungsqualitäten des Strophanthins.

Mit den Arbeiten von Walz (3) in der Mitte des 19. Jahrhunderts begannen die Versuche, aus Maiglöckchen das wirksame Prinzip zu isolieren. Diese Präparate zeigten unterschiedliche Wirkung (4, 5, 6 u. 7), die auf einen wechselnden Cardenolidgehalt (8) zurückgeführt werden kann. Erst im Jahre 1929 isolierte W. Karrer (9) den Hauptwirkstoff von *Convallaria maj.* L., das Convallatoxin. Andere Autoren (10, 11, 12, 13) führten die Strukturaufklärung des Convallatoxins durch. Die pharmakologischen Arbeiten von Fromherz und Welsch (14), sowie von Weicker (15) bildeten die Grundlage für seine klinische Anwendung. Neben der Arbeit von Karrer (l. c.) findet man in der Literatur eine Reihe weiterer Arbeiten über die Isolierung von Convallatoxin (16, 17, 18, 19), die teilweise widersprechende Angaben enthalten.

Die vorliegende Arbeit verfolgt deshalb das Ziel, die Aufarbeitung der Droge und die Isolierung von Convallatoxin zu studieren. Die Gegenüberstellung der einzelnen Fragen, die während der Aufarbeitung der Droge auftreten, erfordert eine quantitative Bestimmungsmethode für Convallatoxin, die möglicherweise auch für Drogenextrakte verlässliche Werte liefert. Für die photometrische Bestimmung wurde die Reaktion nach Baljet (20, 21) auf Convallatoxin übertragen. Die papierchromatographischen Untersuchungen erfolgten in Anlehnung an die Methode von Tschesche und Seehofer (22).