

CCA-234

545.33:547.587.51

Über die polarographische Untersuchung der Cumarine

M. Deželić und M. Trković

Chemisches Institut der Universität Sarajevo, Sarajevo, Bosnien, Jugoslawien

Eingegangen am 8. November 1961.

Eine Anzahl von Cumarinen, besonders Derivate von 4-Hydroxycumarin, wurden polarographisch untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass alle Cumarine die lokalisierte π -Elektronen zwischen der C=C-Doppelbindung in Stellung 3,4 des Cumarinsystems haben, polarographisch aktiv sind. Dagegen zeigen diejenigen Cumarinderivate bei welchen diese Doppelbindung fehlt, oder bei welchen die π -Elektronen delokalisiert sind, keine Reduktion zwischen $-1,5$ V und $-1,7$ V, die für diese Bindung charakteristisch ist.

Bekanntlich sind die 4-Hydroxycumarinderivate als Antikoagulationsmittel für die Therapie der Thromboembolie wichtig. Darüber bestehen zahlreiche Publikationen, aber diese Verbindungen sind polarographisch relativ wenig untersucht worden. O. Čapka¹ und J. Wratil² untersuchten die polarographische Reduktion des Cumarins während R. Patzak und L. Neugebauer³ ebenfalls das Cumarin und einige seiner Alkyl-, Aryl- und Oxy-Derivate untersuchten.

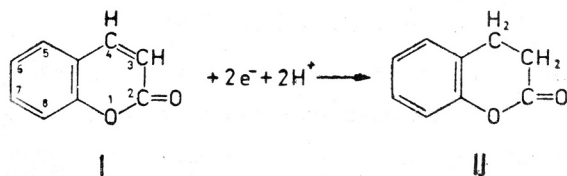
Das Gleichgewicht und das Verhalten des Cumarins in verschiedenen pH-Bereichen untersuchten polarographisch A. J. Harle und L. E. Lyons⁴, sowie R. Patzak und L. Neugebauer³. Die genannten Autoren konnten feststellen, dass in alkalischen Lösung der Laktoring des Cumarinsystems gespalten wird und in Cumarinsäure übergeht. Ausserdem konnten Patzak und Neugebauer⁵ feststellen, dass zwischen der Stabilität des Laktoringes in alkalischer Lösung und der Lage des Halbstufenpotentials eine auffallende Parallelität besteht. Je negativer das Halbstufenpotential liegt, desto stabiler ist der Laktoring im alkalischen Bereich.

Wir nehmen an, dass die Ursache dieses Verhaltens mit einer Änderung der Feinstruktur des Cumarinsystems zusammen hängt. Um eine bessere Einsicht in dieses Problem zu bekommen, haben wir eine grössere Anzahl Cumarin- und 4-Hydroxycumarin-Derivate polarographisch und auch spektrophotometrisch untersucht.

Wie wir fanden, hängt die polarographische Aktivität der Cumarinderivate von der C=C-Doppelbindung zwischen 3,4-Stellung ab. Dieser Prozess entspricht einer polarographischen Stufe (in unserem Falle bei HSP = $-1,58$ V).

Die polarographische Reduktion des Cumarins (I) in Dihydrocumarin (II) verläuft entweder unter Aufnahme von zwei Elektronen und zwei Protonen, oder vielleicht durch Anlagerung von einem Elektron und einem Proton (reversibel an das Sauerstoffatom der Carbonylgruppe) wodurch ein Radikal entsteht das sich am C₄-Atom zum Dihydrodicumarin dimerisiert. Diese Annahmen müssen noch bestätigt werden.

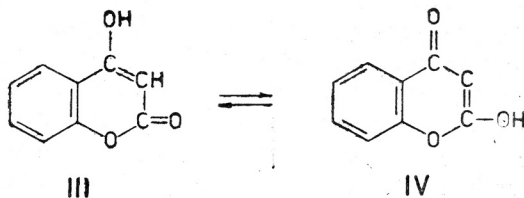
Die Halbstufenpotentiale der Cumarine sind in der Tabelle I angeführt. Von 24 angeführten Verbindungen sind nur vier schon früher von Patzak und Neugebauer⁵, und zwar Fraxin, Fraxetin, Umbelliferon und Äskuletin, aufgenommen worden. Wir konnten bestätigen, dass die Halbstufenpotentiale (HSP) dieser Verbindungen von den pH der Lösungen abhängen. Die in der Tabelle I angeführten Werte für die HSP beziehen sich auf die pH-Werte 6.



Das Coumarin gibt in ungepufferter alkalischer Tetraäthylammoniumbromid-Lösung zwei Stufen², und zwar die erste bei $-1,66$ V und die zweite bei $-2,16$ V (bezogen auf die 1 N Kalomelelektrode). Auch andere Coumarinderivate gaben mit Tetraalkylammoniumbromid bzw. -hydroxyd als Leitsalz eine zweite Stufe, welche in den meisten Fällen die gleiche Höhe wie die erste Stufe hatte, jedoch immer viel flacher verlief.

Für unsere Zwecke ist nur die erste Stufe von Bedeutung, da sie von der C=C-Doppelbindung zwischen der 3,4-Stellung des Coumarinsystems herrührt. Deswegen haben wir alle Messungen in einer 0,1 M Ammoniumchloridlösung durchgeführt. Unter diesen Bedingungen bekamen wir die Halbstufenpotentiale zwischen $-1,5$ V und $-1,75$ V bei pH = 6. Alle Coumarinderivate die lokalisierte π -Elektronen in 3,4-Stellung des Coumarinsystems besitzen haben ihr HSP in diesem Bereich (siehe Tabelle I, No. 1—9, und 17—24).

Beim Polarographieren von 4-Hydroxycoumarin bekamen wir interessante Resultate, die durch Coumarin-Chromon-Tautomerie zu deuten wären. Nach Arndt und Mitarbeitern⁶ kommt das 4-Hydroxycoumarin in Lösung in tautomeren Formen, als Coumarin (Benzo- α -pyron) (III) und als 2-Hydroxychromon (Benzo- γ -pyron) (IV) vor. In neutralem und schwach sauerem Milieu (pH 5—6) sieht man am Polarogramm eine gut ausgeprägte Stufe bei $-1,65$ V und eine schwache mit viel flacherem Verlauf bei $-1,21$ V. Wir nehmen an, dass diese Stufe von der tautomeren Chromon-Form (IV) herrührt. Die Coumarin-Form (III) ist stabiler und kommt in grösserem Anteil vor, deswegen ist die zweite Stufe (HSP = $-1,65$ V) besser ausgeprägt und besitzt negativeres HSP (siehe Abb. 1).



Das Halbstufenpotential des 4-Hydroxycumarins (HSP = $-1,65$ V) ist negativer als das von Coumarin (HSP = $-1,58$ V) was für die etwas grössere Stabilität des ersteren spricht und zwar wegen der Coumarin-Chromon-

TABELLE I

Halbstufenpotentiale des Cumarins und einiger Derivate

Verbindung	HSP (V) pH = 6	Temp.	Literatur HSP (V) 25°
1. Cumarin	-1.58	20	-1.53 (0.1 M Tetraäthylammoniumbromid) ²⁾
2. Äskulin (6-Glucosido-7-hydroxycumarin)	-1.64	"	—
3. Äsuletin (6,7-Dihydroxycumarin)	-1.68	"	-1.83 ⁵⁾
4. Fraxin (6-Methoxy-7-hydroxy-8-glucosidocumarin)	-1.65	"	-1.81 ⁵⁾
5. Fraxetin (6-Methoxy-7,8-dihydroxycumarin)	-1.63	"	-1.65 ⁵⁾
6. Äskulinpentaacetyl	-1.51	"	—
7. Fraxinpentaacetyl	-1.52	"	—
8. Umbelliferon (7-Hydroxycumarin)	-1.66	"	-1.67 ⁵⁾
9. 4-Hydroxycumarin	(-1.21) 1.65	"	-1 ¹⁰⁾
10. Warfarin (3-Acetonil-benzyl-4-hydroxycumarin)	—	"	-9
11. Sintrom (3- α -Acetonil-4'-nitrobenzyl-4-hydroxycumarin)	-0.61	"	—
12. 3-Acetyl-4-hydroxycumarin	-1.27	"	—
13. 3-Propionyl-4-hydroxycumarin	-1.37	50	—
14. 3-Butyryl-4-hydroxycumarin	-1.33	60	—
15. 3-Isovaleryl-4-hydroxycumarin	-1.31	60	—
16. 3-Nicotinyl-4-hydroxycumarin	-1.36, -1.68	20	—
17. 3,3'-Methylen-bis-4-hydroxycumarin	-1.68	"	—
18. 3,3'-Benzilyden-bis-4-hydroxycumarin	-1.61	"	—
19. 3,3'- <i>o</i> -Hydroxybenzilyden-bis-4-hydroxycumarin	-1.72	"	—
20. 3,3'- <i>m</i> -Hydroxybenzilyden-bis-4-hydroxycumarin	-1.59	"	—
21. 3,3'- <i>p</i> -Toluiden-bis-4-hydroxycumarin	-1.46	"	—
22. 3,3'-Benzilyden-bis-4-hydroxycumarin-diäthyläther	-1.52	"	—
23. 3,3'- <i>m</i> -Hydroxybenzilyden-bis-4-hydroxycumarin-diäthyläther	-1.74	"	—
24. 3,3'- <i>p</i> -Toluiden-bis-4-hydroxycumarin-diäthyläther	-1.75	"	—

Tautomerie, die teilweise eine Delokalisierung von π -Elektronen zwischen 3,4-Stellung hervorruft.

Verschiedene Substituenten in 3-Stellung können beim 4-Hydroxycumarin noch stärker auf die Delokalisierung der π -Elektronen wirken. Auf Grund der

polarographischen Resultate können wir schliessen, dass die Alkyl-acylreste in 3-Stellung den Laktoring im Cumarinsystem stabilisieren bzw. aromatisieren. Wenn in 3-Stellung des 4-Hydroxycumarins eine Acetyl-, Propionyl-, Butyryl- oder Isovaleryl-Gruppe substituiert ist, haben diese Verbindungen das Reduktionspotential von aliphatisch-aromatischen Ketonen, *d. h.* Halbstufenpotential zwischen $-1,27$ V bis $-1,37$ V. (Acetophenon hat HSP = $-1,38$ V im

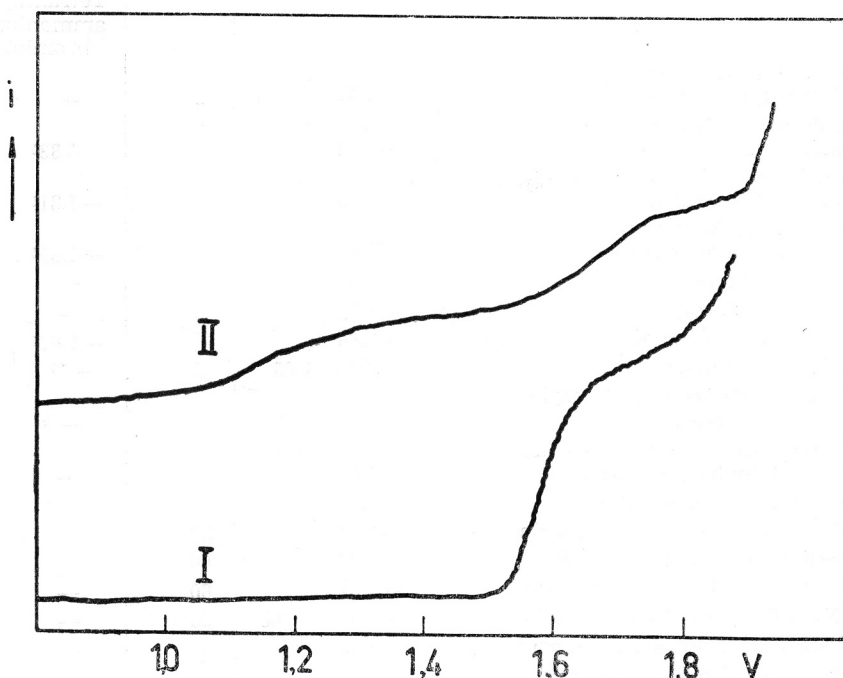


Abb. 1. — Polarogramm des Cumarins (I) und des 4-Hydroxycumarins (II), Grundlösung $0,1$ M-NH₄Cl, pH = 6.

Medium $0,1$ M NH₄Cl und 50% Äthanol)⁷. Zum Beispiel ist auf dem Polarogramm von 3-Acetyl-4-hydroxycumarin eine Stufe bei $-1,27$ V zu sehen (Abb. 2). Diese Verbindungen gaben ohne Tylose oder Gelatine die für Ketone charakteristische Maxima. Aus dem eben Gesagten folgt, dass bei genannten Verbindungen, die J. Klosa⁸ synthetisierte, nur die Ketogruppe und nicht die C=C-Doppelbindung in 3,4-Stellung reduzierbar ist. Das spricht für die Delokalisierung von π -Elektronen und Verbreiterung der konjugierten Doppelbindungen auf die Seitenkette in 3-Stellung. (Abb. 3).

Sehr interessante Resultate gaben die polarographischen Untersuchungen des Warfarins, 3-(α -Acetonyl-benzyl)-4-hydroxycumarin und Sintroms, 3-(α -Acetonyl-4'-nitrobenzyl)-4-hydroxycumarin. Das Warfarin ist polarographisch indifferent, wie schon J. Kovač⁹ beobachtete, aber dafür keine Erklärung gab. Warfarin hat im festen Zustand wahrscheinlich die Struktur eines α -Pyrons das in Lösung teilweise in γ -Pyron übergeht. Diese tautomeren Formen sind in Lösung weniger wahrscheinlich, da hier der Einfluss der Substituenten

in 3-Stellung vorherrscht und die Möglichkeit besteht, dass sich ein System von konjugierten π -Bindungen in die Seitenkette verbreitet. Dadurch wird die

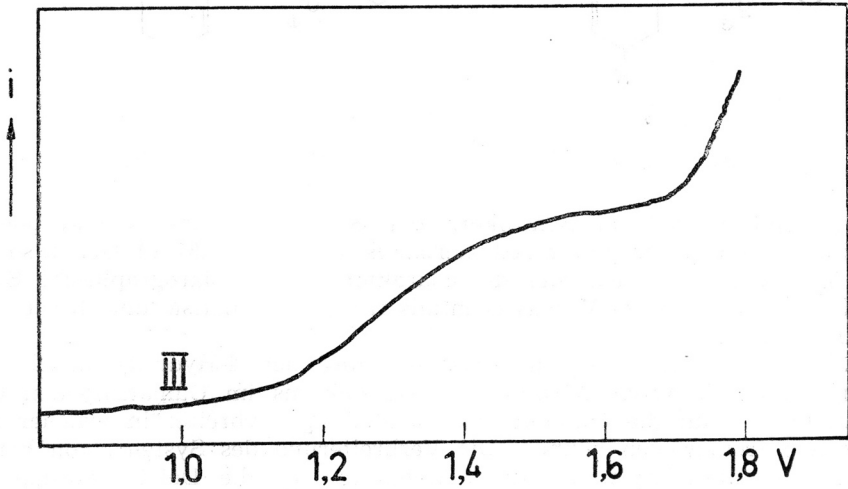


Abb. 2. — Polarogramm des 3-Acetyl-4-hydroxycumarins, Grundlösung 0,1 M-NH₄Cl, pH = 6.

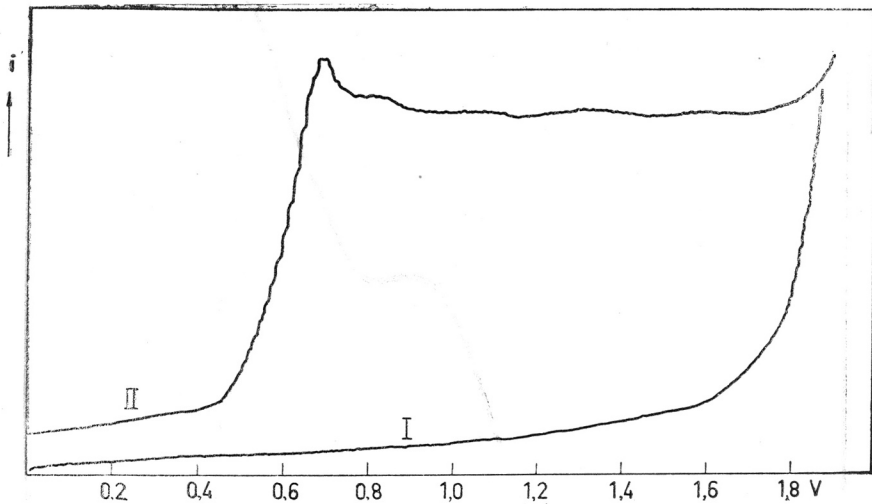
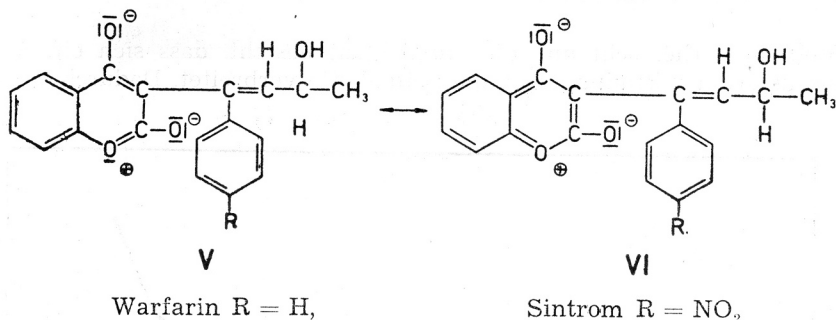


Abb. 3. — Polarogramm des Warfarins (I) und des Sintroms (II), Grundlösung 0,1 M-NH₄Cl, pH = 6.

Stabilisierung bzw. die Aromatisierung des ganzen Systems ermöglicht. Deswegen nehmen wir an, dass Warfarin und Sintrom in aromatischer Form (V und VI) vorkommen.



Das Sintrom hat im Benzolkern der Seitenkette eine Nitrogruppe in *p*-Stellung die polarographisch reduzierbar ist (HSP = -0,61 V). Genau so wie beim Warfarin fehlt auch hier die charakteristische polarographische Stufe zwischen -1,5 bis -1,75 V, was ebenfalls für die Aromatisierung dieser Verbindung spricht.

Allgemein könnten wir die Stabilisierung der 4-Hydroxycumarine so deuten, dass sich durch Wirkung des Benzolkerns im Cumarinsystem eine Potentialmulde auf die Seitenkette in 3-Stellung verbreitet in welcher sich Elektronen freibewegen können. Die Verbreiterung des Systems von konjugierten Doppelbindungen auf die Seitenkette ruft die Delokalisierung der

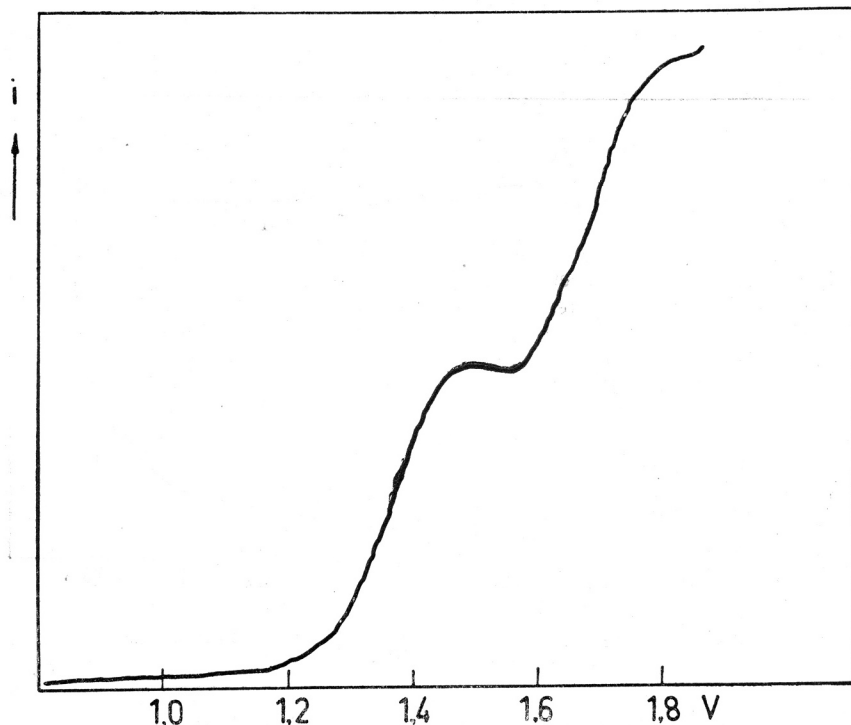
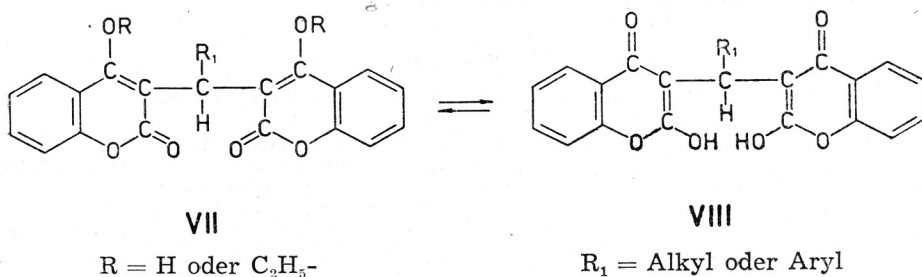


Abb. 4. — Polarogramm des 3-Nicotinyl-4-hydroxycumarins, Grundlösung 0,1 M-NH₄Cl, pH = 6.

π -Elektronen im ganzem System hervor. Die Verbreitung der Potentialmulde auf die Seitenkette ruft auch eine beträchtliche thermodynamische Stabilität dieser Verbindungen hervor.

Bei dem Kondensationsprodukt von 4-Hydroxycumarin mit Nikotinsäure, (3-Nikotinyl-4-hydroxycumarin) sind am Polarogramm zwei Stufen, eine bei $-1,36$ V und die andere bei $-1,68$ V, zu sehen (Abb. 4). Die erste Stufe entspricht dem Reduktionspotential der Ketogruppe bzw. des Pyridins (beide haben sehr nahe Halbstufenpotentiale die sich überlagern), während die zweite Stufe von der Doppelbindung in 3,4-Stellung des Laktanringes hervorgerufen wird. Der Heterozyclus in der Seitenkette zerstört die Komplanarität und die Symmetrie der Bindungen und dadurch auch die gleichmässige Verteilung der π -Elektronen in die Seitenkette dieses Systems. Dies hat zur Folge, dass hier die π -Elektronen in 3,4-Stellung lokalisiert bleiben.

Weiter konnten wir feststellen, dass alle untersuchten 3,3'-Alkyliden- und 3,3'-Aryliden-bis-4-hydroxycumarine wie auch ihre Diäthyläther polarographisch aktiv sind. Diese Verbindungen entstehen durch Kondensation des 4-Hydroxycumarins mit verschiedenen Aldehyden und haben eine dem Dicumarol ähnliche Struktur.



Wenn wir die Konstitutionsformel dieser Verbindungen (VII und VIII) betrachten wird uns klar, dass zwischen den 3 und 3'-Stellungen keine π -Bindung entstehen kann. Deswegen besteht auch hier keine Möglichkeit, dass sich das System konjugierter Doppelbindungen auf das ganze System verbreitet. Hier kann es nicht zur Aromatisierung des Laktanringes im Cumarinsystem kommen.

Zum Schluss möchten wir erwähnen, dass durch Messungen der UV-Absorptionsspektren der obenbenannten Cumarine, die hier ausgesprochene Behauptung von Stabilisierung bzw. Aromatisierung des Cumarinsystems, bekräftigt wurde.

Wir haben auch die Halbstufenpotentiale der Cumarine in gepufferten Lösungen bei verschiedenen pH-Werten gemessen. Über diese Messungen werden wir demnächst referieren.

Wir danken Herrn Prof. P. Zuman für seine anregenden Bemerkungen zu dieser Arbeit auf die wir in unserer nächsten Mitteilung näher eingehen werden. Die Rolle der polaren Effekte, neben den von uns erwähnten Resonanzeffekten und ihre Beeinflussung durch Substituenten, werden wir berücksichtigen. Die polaren Effekte bei der polarographischen Reduktion von Cumarinen, bewies P. Zuman¹¹ mit Hilfe der Hammettschen Gleichung.

EXPERIMENTELLER TEIL

Alle Messungen wurden mit dem Polarographen »RADIOMETER« Copenhagen, Typ P0 3h, ausgeführt. Um die erhaltenen Resultate miteinander besser vergleichen zu können, benutzten wir als Zusatzelektrolyt stets 0,1 M Ammoniumchloridlösung. Alle Substanzen (ausgenommen Fraxin) wurden in redestilliertem 96% Äthanol gelöst und bis zur 0,01 M verdünnt. Nur Fraxin wurde in Wasser gelöst.

Zum Polarographieren nahmen wir von den Substanzen No. 1 bis 18 (siehe Tabelle I) immer 0,5 ml. 0,01 molarer Lösung und 9,5 ml 0,1 M NH_4Cl ; und von den Substanzen No. 18 bis 24 immer 1,5 ml 0,01 molarer Lösung, 1,5 ml redestillierten 96% Äthanol und 7 ml 0,1 M NH_4Cl -Lösung. Ohne Tylose wurden die Substanzen 1 bis 12 aufgenommen, während alle anderen Substanzen unter Zugabe von 0,04% Tyloselösung polarographiert wurden. Die Tyloselösung mussten wir besonders bei den Acyl-4-hydroxycumarinen (Cumarinketonen) zur Vermeidung polarographischer Maxima verwenden. Wir haben die Lösungen meistens bei 20° polarographiert. Die Substanzen No. 13, 14 und 15 mussten wir, der schweren Löslichkeit wegen, bei 50° bzw. bei 60° polarographieren. Temperaturkonstanz war $\pm 0,01^\circ\text{C}$.

Die Polarogramme wurden erst nach dem Verdrängen des Luftsauerstoffs aus der Lösung durch reinen Wasserstoff aufgenommen. Als Anode diente eine gesättigte Kalomelektrode und als Kathode eine Quecksilbertropfenelektrode, die beim Potential $-1,5\text{ V}$ in 0,1 M NH_4Cl -Lösung und bei 20° folgende Konstanten besass: Tropfzeit $t = 2,15\text{ sec}$, Ausströmungsgeschwindigkeit $m = 3,39\text{ mg/sec}$. Die Konstante $K = i_k/a_k$ betrug $3,25 \times 10^{-10}\text{ A/mm}$; ($i_k = 2 \times 10^{-8}\text{ V}$, $a_k =$ Abstand zwischen zwei linearen Registrierungen am polarographische Papier in mm)¹².

LITERATUR

1. O. Čapka, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **15** (1950) 965.
2. J. Wratil, *Dissertation*, Univ. Wien 1948, cf. cit. 3.
3. R. Patzak und L. Neugebauer, *M. Chem.* **82** (1951) 662.
4. A. J. Harle und L. E. Lyons, *J. Chem. Soc.* **1950**, 1575; cf. *C. A.* **46** (1952) 22.
5. R. Patzak und L. Neugebauer, *M. Chem.* **83** (1952) 776.
6. F. Arnd, L. Loewe, R. Ün und E. Ayca, *Chem. Ber.* **84** (1951) 319.
7. N. Waljaschko und J. S. Rosum, *Zhur. Obchshei Khim.* **18** (1948) 710; cf. K. Schwabe: *Polarographie und Chemische Konstitution organischer Verbindungen* Akad. Verl. Berlin 1957. S. 54.
8. J. Klosa, *Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharm. Ges.* **288** (1955) 356.
9. J. Kovač, *Chem. Zvesti* **8** (1954) 342.
10. E. Knobloch, *Chem. Zvesti* **10** (1954) 953.
11. P. Zuman, *Chem. Listy* **48** (1954) 94. *Advances in Polarography*, Pergamon Press, 1960, Vol. III. S. 812.
12. A. Scholander, *Introduction to Practical Polarography*, København 1950.

IZVOD

O polarografskom istraživanju kumarinskih derivata

M. Deželić i M. Trkovnik

Veći broj kumarinskih derivata istražili smo polarografski, pa smo pri tom zapazili, da svi oni kumarini, koji imaju lokalizirane π -elektrone u dvostrukoj $\text{C} = \text{C}$ vezi, u položaju 3,4, posjeduju karakterističnu polarografsku stepenicu. Potencijal polovice stepenice (PPS), koji odgovara toj redukciji, uvijek je između $-1,50\text{ V}$ i $-1,75\text{ V}$ (kod pH 6). Adiranjem vodika na spomenutu dvostruku vezu nestaje karakteristične polarografske stepenice.

Nadalje smo našli, da derivati 4-hidroksikumarina, kod kojih je u položaju 3 supstituiran alkil-acilni ostatak (ketokumarini), nemaju spomenute polarografske stepenice, nego samo onu, koja odgovara potencijalu redukcije alifatsko-aromatskih ketona (vidi tablicu br. 12—15). Zanimljivo je zapažanje, da je poznato antikoagulationo sredstvo varfarin polarografski indiferentan. Slično građeni sintrom ima polarografsku stepenicu, koja odgovara redukciji nitrogrupe.

Pretpostavljamo, da su se u svim ovim slučajevima konjugirane dvostruke veze proširile na pobočni lanac u položaju 3, što je izazvalo delokaciju π -elektrona i aromatizaciju laktonskoga prstena. Na taj način postali su ti spojevi termodinamički stabilniji što se i polarografski može konstatirati. Izuzetno nikotininil-4-hidroksikumarin, sa heterociklusom u pobočnom lancu, koji sprečava jednoliko proširenje π -elektrona na pobočni lanac, tako da oni ostaju lokalizirani u položaju 3,4 ima dvije polarografske stepenice. Prva odgovara potencijalu redukcije ketogrupe (PPS $-1,36$ V) a druga redukciji dvostruke veze u položaju 3,4 (PPS $-1,68$ V).

Kod 3,3'-alkiliden- i 3,3'-ariliden-bis-4-hidroksikumarina, koji imaju sličnu strukturu kao i dikumarol, nema mogućnosti, da se proširi sistem konjugiranih dvostrukih veza između položaja 3 i 3', pa ne može doći niti do aromatizacije laktonskoga prstena. Zbog toga svi ti spojevi imaju karakterističnu polarografsku stepenicu, koja odgovara lokaliziranoj dvostrukoj vezi u 3,4-položaju kumarinskog sistema.

KEMIJSKI INSTITUT
UNIVERZITET — SARAJEVO

Primljeno 8. studenoga 1961.