

Zur kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmung und Struktur von Dehydroascorbinsäure

Von B. TEICHMANN und D. ZIEBARTH

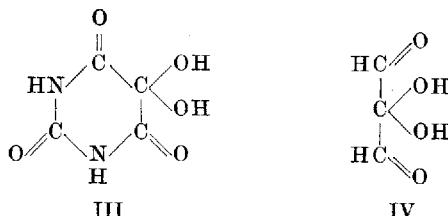
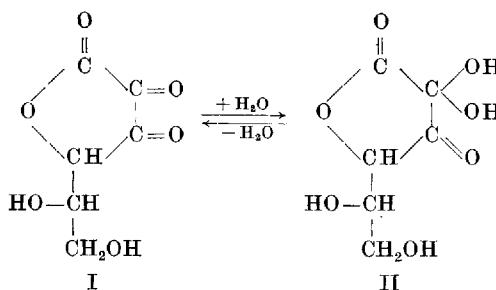
Inhaltsübersicht

Dehydroascorbinsäure liegt auf Grund von Molekulargewichtsbestimmungen in Dimethylsulfoxid monomer gelöst vor. Die dabei auftretende Gelbfärbung deutet darauf hin, daß in der im festen Zustand farblosen Verbindung Halbketalgruppierungen gespalten werden und eine freie α -Diketo-Konfiguration anzutreffen ist.

Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure (DHAS) spielen nicht nur eine Rolle als Vitamin C in antiskorbutischen Prozessen¹⁾, als Konservierungsmittel usw., sondern besitzen z. B. antihämorrhagische Wirkungen an Tumoren, die durch Behandlung mit Bakterienprodukten geschädigt wurden²⁻⁵⁾. Andererseits soll DHAS aber auch die Fähigkeit besitzen in Gewebeschnitten von Transplantationstumoren wie WALKER-Carcinom und JENSEN-Sarcom in vitro (WARBURG-Versuche) die anaerobe Glycolyse zu senken, die Atmung zu steigern und in vivo die gleichen Tumoren durch Einschmelzungsprozesse zu verkleinern⁶⁻⁸⁾. Neben derartigen Fragestellungen nahmen Untersuchungen über das Redox-System Ascorbinsäure—Dehydroascorbinsäure, die vor allem mit polarographischen Methoden durchgeführt wurden⁹⁻²²⁾ einen breiten Raum ein. Diese Untersuchungen führten zu einer

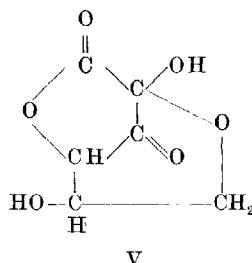
- ¹⁾ A. SZENT-GYÖRGYI, Bioenergetics, Academic Press New York 1957, 49.
- ²⁾ H. B. ANDERVONT u. M. B. SHIMKIN, Amer. J. Cancer **36**, 451 (1939).
- ³⁾ E. BOYLAND u. M. E. BOYLAND, Biochem. J. **31**, 454 (1937).
- ⁴⁾ W. H. EDDY, B. SOKOLOFF u. R. POWELLA, Cancer Res. **12**, 258 (1952).
- ⁵⁾ E. HARDE u. N. KOBIZIEFF, C. R. Soc. Biol. (Paris) **122**, 744 (1936).
- ⁶⁾ E. HEISE, Diplomarbeit, Humboldt-Universität Berlin 1957.
- ⁷⁾ E. HEISE, W. LÜHRS u. O. NEUNHOEFFER, Naturwissenschaften **44**, 425 (1957).
- ⁸⁾ E. HEISE, W. LÜHRS u. O. NEUNHOEFFER, Z. Krebsforschg. **62**, 509 (1958).
- ⁹⁾ S. ONO, M. TAGAKI u. T. WASA, Bull. chem. Soc. Japan **31**, 356 (1958).
- ¹⁰⁾ S. ONO, M. TAGAKI u. T. WASA, J. Amer. chem. Soc. **75**, 4369 (1953).
- ¹¹⁾ H. BORSOOK u. G. KEIGHLY, Proc. Nat. Acad. Sci. **19**, 875 (1933).
- ¹²⁾ R. WURMSEY u. J. A. DE LOUREIRO, J. chim. phys. **31**, 419 (1934).
- ¹³⁾ E. G. BALL, J. biol. Chem. **118**, 219 (1937).
- ¹⁴⁻²²⁾ s. S. 125.

Reihe von Ergebnissen, die erhebliche Abweichungen von den erwarteten zeigten. Vor allem fiel das Verhalten der DHAS auf, die z. B. in Pufferlösungen, die wechselnde Mengen Borat enthielten, keine Oxydationsstufe³⁾ erkennen ließ, obwohl die Stufen der Ascorbinsäure in den gleichen Puffersystemen beobachtet werden konnten. DHAS scheint sich mit Borat-Ionen zu einem Produkt zu kombinieren, das an der Quecksilber-Tropfelektrode nicht mehr oxydierbar ist²³⁾, was andererseits im Einklang steht mit dem Verschwinden der polarographischen Reduktionsstufe von Benzil, hervorgerufen durch Reaktion seiner Carbonylgruppen mit Borat-Ionen²⁴⁾. Die nicht hydratisierte Form (I) von DHAS ließ sich besser reduzieren als die hydratisierte (II). Die Hydratation der zentralen Carbonylgruppe (3-Stellung) macht die Verbindung für diese Reaktion nahezu inaktiv, wie es ähnlich gefunden wurde bei den analog konfigurierten Hydraten von Alloxan (III) und Mesoxalaldehyd (IV)²⁵⁾.



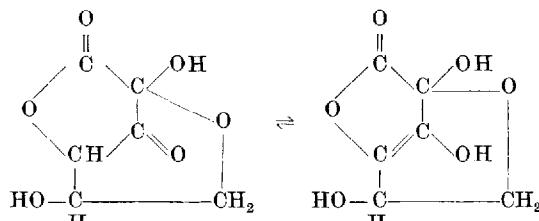
- ¹⁴⁾ E. KODICEK u. K. WENIG, Nature (London) **142**, 35 (1937).
¹⁵⁾ C. CATTANO u. G. SARTORI, Gazz. chim. ital. **72**, 351 (1942).
¹⁶⁾ Y. OKADA, J. Agr. Chem. Soc. Jap. **19**, 749 (1943); ebenda **19**, 955 (1943).
¹⁷⁾ D. NOMURA, Dissertation Universität Kyoto 1942.
¹⁸⁾ C. GO, J. Ferment. Technol. Jap. **23**, 165 (1945).
¹⁹⁾ Z. VAVRIN, Coll. Czech. Chem. Commun. **14**, 367 (1947).
²⁰⁾ R. BRDICKA u. P. ZUMAN, Coll. Czech. Chem. Commun. **15**, 766 (1950).
²¹⁾ D. H. M. KERN, J. Amer. chem. Soc. **76**, 4234 (1954).
²²⁾ J. KOUTECKÝ, Coll. Czech. Chem. Commun. **20**, 116 (1955).
²³⁾ W. E. MILITZER, J. biol. Chem. **158**, 247 (1945).
²⁴⁾ R. PASTERNAK, Helv. chim. Acta **30**, 1984 (1947).
²⁵⁾ S. ONO, M. TAGAKI u. T. WASA, Bull. chem. Soc. Japan **31**, 346 (1958).

Aus den Eigenschaften der DHAS ergaben sich Fragestellungen hinsichtlich ihrer Struktur. Die sonst üblicherweise dieser Verbindung zugeordnete Formel I zeigt eine α -Diketogruppe in Nachbarschaft zur Carbonylgruppe einer Lacton-Konfiguration. Demzufolge sollte DHAS gelb gefärbt sein. Da die Verbindung aber auch im nichthydratisiertem festem Zustand farblos ist ist anzunehmen, daß eine Carbonylgruppe, und zwar die zentral am 3. Kohlenstoffatom ausgebildete, anderweitig maskiert ist. EISTERT²⁶⁾ schlug für DHAS daher die Formel V mit einer inneren Halbketalgruppierung unter Beteiligung der zentralen Carbonylgruppe vor, verbunden mit der Bildung eines Sechsringes.



V

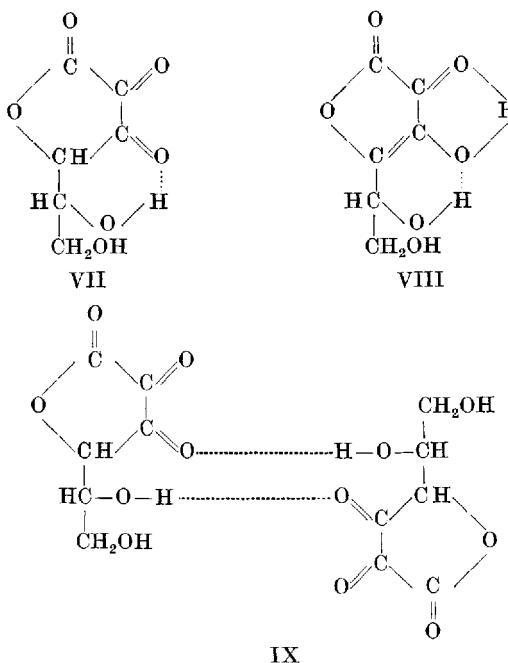
Auf Grund der Unlöslichkeit von DHAS in den meisten organischen Lösungsmitteln und ihres relativ hohen Schmelzpunkts von 220–225 °C²⁷⁾ vermutete EISTERT weiter, daß die Halbketalbildung nur primär intramolekular erfolgen würde, um dann in intermolekulare Brücken unter Bildung hochmolekularer Aggregate überzugehen. Neben den Formeln von EISTERT lassen sich für DHAS im festen Zustand noch die dazu tautomere Form VI sowie die Konfigurationen mit intra- (VII und VIII) bzw. intermolekularen Wasserstoffbrücken (z. B. IX) aufstellen. Die möglichen Formulierungen VII bis IX sind jedoch weniger wahrscheinlich, da durch die Wasserstoffbrücken-Bindung kaum ein solch starker hypsochromer Effekt auftreten sollte, der die aus einer α -Diketo-Konfiguration resultierende Farbigkeit der Verbindung vollkommen zum Verschwinden bringen kann.



VI

²⁶⁾ B. EISTERT, Angew. Chem. **66**, 160 (1954).

²⁷⁾ J. KENYON u. N. MURO, J. chem. Soc. (London) **1948**, 158.



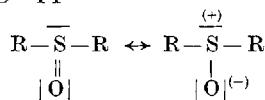
Wegen der Schwer- bzw. Unlöslichkeit der DHAS war bislang noch keine eindeutige Bestimmung des Molekulargewichts möglich gewesen. Es erschien unzweckmäßig eine Molekulargewichtsbestimmung nach RAST in Campher vorzunehmen, da der Schmelzpunkt von DHAS sehr von der Geschwindigkeit abhängig ist, mit der die Probe erhitzt wird und auch schon nach einiger Zeit der Aufbewahrung deutlich niedriger wird. Da andere Lösungsmittel nicht in Frage kamen, wurde versucht, die Molekulargewichtsbestimmungen kryoskopisch mit Hilfe einer modifizierten BECKMANN-Apparatur²⁸⁾²⁹⁾ in Dimethylsulfoxid (DMSO) durchzuführen²⁸⁾. Unter Zugrundelegung einer molaren Gefrierpunktserniedrigung von 4,4° für DMSO, die mit Naphthalin, Benzoësäure und Benzoin als Eichsubstanzen experimentell ermittelt wurde³⁰⁾, konnte nachgewiesen werden, daß DHAS in diesem Lösungsmittel monomer vorliegt. Bemerkenswert ist dabei, daß die erhaltenen Lösungen gelb gefärbt sind. Dies deutet aber darauf hin, daß DHAS in DMSO mit hoher Wahrscheinlichkeit in der α -Diketo-Konfiguration (I) vorliegt. Die Molekulargewichtsbestimmung von DHAS in DMSO gestattet also nicht, Aussagen über die Struktur der DHAS im festen Zustand zu machen, da die Lösung in DMSO offenbar mit Strukturänderungen verbunden ist. Auf

²⁸⁾ D. ZIEBARTH, Diplomarbeit, Humboldt-Universität 1959.

²⁹⁾ B. TEICHMANN u. D. ZIEBARTH, J. prakt. Chem., im Druck.

³⁰) R. SCHWYZER u. P. SIEBER, *Hely. chim. Acta* **41**, 2190 (1958).

Grund bestimmter Eigenschaften des DMSO wie des relativ hohen Dipolmoments von $\mu = 3,95^{31}$), das überwiegend bestimmt wird durch das SO-Bindungsmoment³²⁻³⁴) und der damit verbundenen ausgeprägten Wasserstoffbrücken-Bindungsfähigkeit³⁵⁾³⁶), seiner allgemeinen Reaktivität als nucleophiles Reagens (Bildung intermediärer Sulfoniumsalze der Art $\text{R}-\text{O}-\overset{+}{\text{S}}(\text{CH}_3)_2^{37}$), Reaktionen unter Beteiligung eines Dimethylsulfoxid-Anions $\text{CH}_3\text{SOCH}_2^{-37-46}$) und von Anlagerungsverbindungen des Typs $(\text{CH}_3)_2\text{S}(\text{OH})\text{X}$ mit $\text{X} = \text{NO}_3^{48}$ oder $\text{X} = \text{Cl}^{48}$), ist offensichtlich DMSO auch in der Lage intra- oder intermolekulare Halbketalstrukturen zu spalten. Es ist auch anzunehmen, daß durch den stark polaren Charakter der Sulfoxidgruppierung Wasserstoffbrücken gespalten werden und DMSO auf Grund des Charakters der SO-Bindung⁴⁹) in einer Art Verdrängungsreaktion selbst z. B. mit Hydroxylgruppen Wasserstoffbrücken-Bindungen eingeht.



Dies wird unterstrichen durch thermodynamische, dielektrische und viskositätsmetrische Daten⁵⁰⁾⁵¹⁾, die das Vorhandensein starker Wechselwirkungen

³¹⁾ L. G. WESSON, Table of Electric Dipole Moments, The Technological Press, Cambridge Mass. 1948.

- 32) H. DREIZLER u. G. DENDL, Z. Naturforschg. **189a**, 512 (1964).
 33) R. E. RUNDLE, Tables of Interatomic Distances, Acta Cryst. **3**, 46 (1950).
 34) O. BASTIANSEN u. H. VIERVOLL, Acta chem. Scand. **2**, 702 (1948).
 35) W. DRINKARD u. D. KIVELSON, J. physie. Chem. **62**, 1494 (1958).
 36) A. L. McCLELLAN, S. W. NICKSIC u. J. C. GUFFY, J. Molecular Spektra **11**, 340 (1963).
 37) S. G. SMITH u. S. WINSTEIN, Tetrahedron **3**, 317 (1958).
 38) D. J. CRAM, B. KICKBORN, C. A. KINGSBURY u. P. HABERFIELD, J. Amer. chem. Soc. **83**, 3678 (1961).
 39) A. SCHRIESHEIM, J. E. HOFMANN u. C. A. ROWE, J. Amer. chem. Soc. **83**, 3731 (1961).
 40) G. A. RUSSEL, E. G. JANZEN, H. BECKER u. F. J. SMENTOWSKI, J. Amer. chem. Soc. **84**, 2652 (1962).
 41) G. A. RUSSEL u. H. D. BECKER, J. Amer. chem. Soc. **85**, 3406 (1963).
 42) T. J. WALLACE, J. E. HOFMANN u. A. SCHRIESHEIM, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2739 (1963).
 43) E. J. COREY u. M. CHAYKOVSKY, J. Amer. chem. Soc. **84**, 866 (1962).
 44) M. CHAYKOVSKY u. E. J. COREY, J. org. Chem. **28**, 254 (1963).
 45) C. WALLING u. L. BOLLYKY, J. org. Chem. **28**, 256 (1963).
 46) C. WALLING u. L. BOLLYKY, J. org. Chem. **19**, 2699 (1964).
 47) E. FROMM, Liebigs Ann. Chem. **396**, 75 (1913).
 48) F. HERRMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 3813 (1906).
 49) W. E. MOFFIT, Proc. Roy. Soc. (London) Ser. A **200**, 409 (1950).
 50) J. J. LINDBERG u. J. KENTTÄMAA, Suomen Kemist. B **33**, 104 (1960).
 51) J. J. LINDBERG u. R. LAURÉN, Finska Kemists. Medd. **71**, 37 (1962).

zwischen DMSO und Wassermolekülen beweisen. Weiterhin zeigen auch IR- und RAMAN-spektroskopische Untersuchungen von wasserhaltigem DMSO, daß zwischen DMSO- und Wassermolekülen starke Kräfte wirksam sind⁵²⁻⁵⁶⁾ die auf Dipol-Dipol-Wirkungen bzw. sogar solche vom Ionentyp zurückgeführt werden. Bei kryoskopischen Messungen konnte jedoch keine definierte Komplexbildung zwischen DMSO und Wasser festgestellt werden⁵⁷⁾.

Vergleichende Untersuchungen der IR-Spektren von DHAS im festen und gelöstem Zustand, die z. Z. durchgeführt werden, dürften weitere Einblicke in die Struktur der DHAS bringen.

Experimentelles

Bei den kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmungen von DHAS in DMSO wurde eine bereits früher beschriebene modifizierte Apparatur nach BECKMANN verwendet^{28) 29)}. DHAS wurde modifiziert nach PECHERER^{58) 8)} aus Ascorbinsäure durch Oxydation mit Chlor in wasserfreiem Methanol unter Zusatz von Bleicarbonat hergestellt. DMSO wurde wie früher beschrieben²⁹⁾ durch fraktionierte Destillation im Vakuum unter Reinststickstoff bis zur Schmelzpunkts-Konstanz gereinigt.

Messungen

Mol DHAS/1000 g DMSO	Gefrierpunktterniedrigung Δt in °C
0,0159	0,057
0,0314	0,135
0,0499	0,221
0,0691	0,310

⁵²⁾ A. SALONEN, Ann. Acad. Sci. Fenn., Ser. VI, No. 67 (1961).

⁵³⁾ W. D. HORROCKS u. F. A. COTTON, Spectrochim. Acta 17, 134 (1961).

⁵⁴⁾ R. VOGEL-HÖGLER, Acta Phys. Austriaca 1, 323 (1948).

⁵⁵⁾ J. R. HOLMES, D. KIVELSON u. W. DRINKARD, J. Amer. chem. Soc. 84, 4677 (1962).

⁵⁶⁾ I. M. KOITHOFF u. T. B. REDDY, Inorg. Chem. 1, 189 (1962).

⁵⁷⁾ Nitroglycerin AB Gyttorp (Schwed.), Technical Bull. DMSO 357.

⁵⁸⁾ B. PECHERER, J. Amer. chem. Soc. 73, 3827 (1951).

Berlin-Buch, Institut für Krebsforschung der Forschungsgemeinschaft der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

Bei der Redaktion eingegangen am 11. Juni 1965.