

- [5] P. RUGGLI & A. STAUB, *Helv.* **19**, 1288 (1936); **20**, 37 (1937).
[6] A. M. MONRO, R. M. QUINTON & T. I. WRIGLEY, *J. med. Chemistry* **6**, 255 (1963); C. VAN DER STELT, W. J. HEUS & W. TH. NAUTA, *Arzneimittelforsch.* **14**, 116 (1964); F. SOWINSKI & H. L. YALE, *ibid.* **14**, 117 (1964).
[7] A. WAHL & P. BAYARD, *C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci.* **148**, 716 (1909); G. DE STEVENS & M. DUGHI, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 3087 (1961).
[8] E. MERCK AG., «Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papierchromatographie», Darmstadt 1964, p. 22.

113. Über die Struktur des Ascorbigens

von G. Kiss und H. Neukom

(10. II. 66)

GMELIN & VIRTANEN [1] haben kürzlich gezeigt, dass die von PROCHÁZKA [2] aus Kohlpflanzen isolierte gebundene Ascorbinsäure, das Ascorbigen, sich erst nachträglich bei der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials bildet. Dabei entsteht durch enzymatische Spaltung von Glucobrassicin über das instabile Skatylisothiocyant zunächst 3-Hydroxymethylindol, das sich mit Ascorbinsäure zum Ascorbigen verbindet. Das letztere konnte auch synthetisch durch Reaktion von Ascorbinsäure mit 3-Hydroxymethylindol [3] oder mit Gramin [4] hergestellt werden. Über die Struktur des Ascorbigens hingegen konnten noch keine genauen Angaben gemacht werden. GMELIN & VIRTANEN [1] vermuteten eine ätherartige Verknüpfung der beiden Komponenten, während PROCHÁZKA [4] einer C-C-Verknüpfung den Vorzug gab.

Neuere Untersuchungen von JONES *et al.* [5] haben gezeigt, dass mit den 2 mesomeren Formen des L-Ascorbat-Ions leicht C- und O-Alkylierungen eintreten können. Die entsprechenden Alkylierungsprodukte sind mit Benzylchlorid hergestellt und charakterisiert worden [5] [6]. Diese Untersuchungen lassen auf einen ähnlichen Mechanismus bei der erwähnten Bildung von Ascorbigen schliessen.

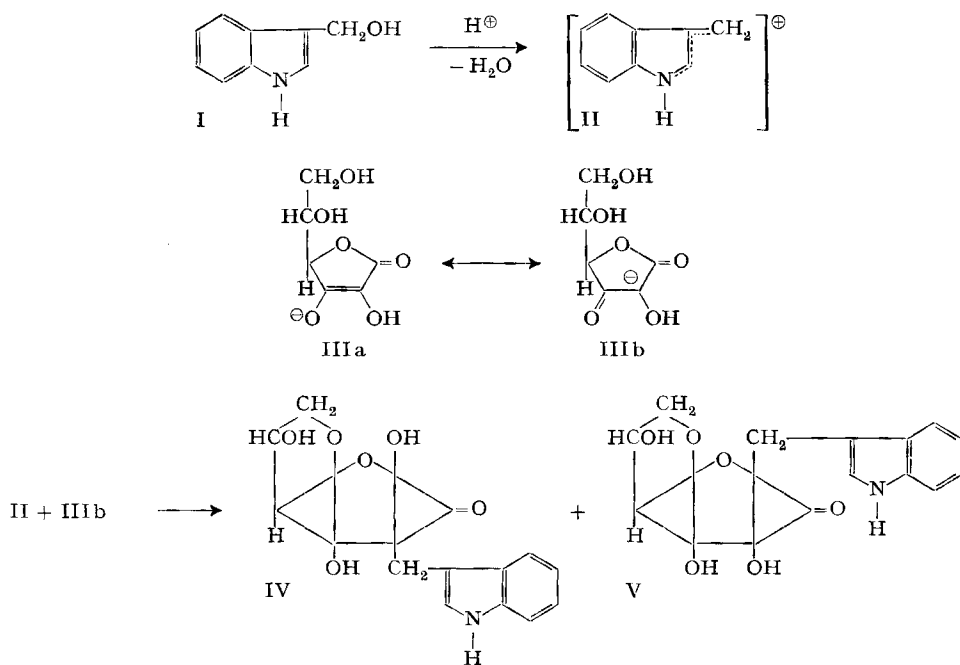
Bei der Reaktion von L-Ascorbinsäure mit 3-Hydroxymethylindol in wässriger Lösung nach VIRTANEN *et al.* [1] [3] konnte neben anderen Reaktionsprodukten (hauptsächlich 3,3'-Diindolylmethan [7]) die Bildung von 2 diastereomeren Ascorbigenen A und B festgestellt werden, wobei überwiegend das Ascorbigen A gebildet wird. Ascorbigen B konnte durch Extraktion der Reaktionslösung mit Äther entfernt und anschliessend Ascorbigen A mit Äthylacetat extrahiert werden. Die Ascorbigene konnten in dünnschichtchromatographisch reiner Form als amorphe weisse Pulver erhalten werden.

Wässrige Lösungen der Ascorbigene reagieren schwach sauer und geben keine Färbung mit FeCl_3 ; 2,6-Dichlorphenolindophenol wird nicht entfärbt. Die Abwesenheit einer Enolgruppierung geht auch aus den IR.-Spektren der Ascorbigene hervor, da die charakteristischen Banden der Ascorbinsäurestruktur bei 1765 cm^{-1} und 1680 cm^{-1} fehlen. Beide Spektren zeigen hingegen einen scharfen Pik bei 1782 cm^{-1} (gesättigter γ -Lactonring). Das IR.-Spektrum von Ascorbigen A ist nahezu identisch mit dem des C-Alkylierungsproduktes aus Ascorbinsäure und Benzylchlorid [6] (2-C-

Benzyl-3-keto-hexulosonsäure-lacton¹⁾), während das Spektrum von Ascorbigen B im «Fingerprint»-Gebiet geringe Abweichungen aufweist. Beide Ascorbigene zeigen reduzierende Eigenschaften (Rotfärbung mit Triphenyl-tetrazoliumchlorid). Bei der Behandlung von Ascorbigen A mit methanolischer HCl konnte ein schön kristallisierendes Methylglykosid erhalten werden, was auf das Vorhandensein eines Halbketals hinweist. Mit methanolischem NH_3 konnte das ebenfalls kristalline Ascorbigenamid gewonnen werden, dessen IR.-Spektrum erwartungsgemäss keine Lactonbande mehr aufweist.

Durch milde Säurebehandlung des Ascorbins A (z.B. bei pH 2 und 37°) wird langsam wieder Ascorbinsäure freigesetzt. In alkalischer Lösung werden die Ascorbigene rasch zersetzt.

In Analogie zu den erwähnten Befunden von JONES *et al.* [5] [6] kann für die Bildung von Ascorbigen folgender Reaktionsmechanismus vorgeschlagen werden:



Demnach wird das L-Ascorbat-Ion IIIb durch das aus 3-Hydroxymethylindol (I) gebildete Carbonium-immonium-Ion II am C-2 alkyliert, wobei die 2 diastereomeren Ascorbigene A und B (IV und V) gebildet werden. Es ist bemerkenswert, dass bei dieser Reaktion in wässrigem Milieu (im Gegensatz zur Reaktion mit Benzylchlorid [5]) keine O-Alkylierung am C-3 beobachtet werden konnte. Von den 2 mesomeren Formen des Ascorbat-Anions (IIIa und IIIb) wird daher bevorzugt die Form IIIb skatyliert. Die Ascorbigene liegen im festen Zustand als Semiketale vor.

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. J. K. N. JONES, Chemistry Dept., Queen's University, Kingston (Canada), für die Überlassung einer Probe dieser Substanz.

Die räumliche Lage des Skatylrestes am C-2 konnte noch nicht mit Sicherheit abgeklärt werden. Die sterische Hinderung durch C-5 und C-6 der Ascorbinsäure scheint den Angriff von unten zu begünstigen, so dass für das Hauptprodukt, das Ascorbigen A, Formel IV (L-Xylo-Konfiguration) vorgeschlagen wird. Die vorläufige Untersuchung des NMR.-Spektrums stützt diese Auffassung. Dem in geringer Menge gebildeten Ascorbigen B wäre demnach Formel V (L-Lyxo-Konfiguration) zuzuordnen. Im Saft zerriebener Weisskohlblätter konnte dünnschichtchromatographisch nur Ascorbigen A nachgewiesen werden.

Experimentelles. – Die Smp. sind unkorrigiert. Die IR.-Spektren wurden in KBr aufgenommen. Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel G (Мерсск), Laufmittel Benzol/Äthanol 4:1, Sprühreagens konz. H_2SO_4 /Vanillin.

Ascorbigen A (IV) nach [3]. 4,4 g (25 mMol) L-Ascorbinsäure wurden bei Zimmertemperatur in 200 ml McILVAINE-Puffer pH 4 gelöst und mit 3,7 g (25 mMol) 3-Hydroxymethylindol versetzt. Das Gemisch wurde bei Zimmertemperatur unter Stickstoff 1 Std. heftig gerührt und anschliessend filtriert. Der rosarote Niederschlag enthält neben viel 3,3'-Diindolymethan verschiedene Indolderivate, darunter unverändertes 3-Hydroxymethylindol, sowie Spuren von IV und V. Das Filtrat wurde viermal mit je 100 ml Äther ausgeschüttelt. In der Äther-Phase befindet sich neben kleineren Mengen 3-Hydroxymethylindol und IV das Ascorbigen B (V). Schliesslich wurde die wässrige Phase mit Äthylacetat extrahiert, das Lösungsmittel über Natriumsulfat getrocknet und bei 40° im Vakuum eingedampft. Ausbeute: 4,2–4,6 g IV (55–60%). Weisses, amorphes Pulver, Sinterung ab etwa 65°. $[\alpha]_D^{25} = +11,0^\circ$ ($c = 2,0$ in Äthanol). IR.: Banden bei 3400, 1782, 1460, 1335, 1120, 1030, 745 cm^{-1} . UV.: λ_{max} : 220, 273–274, 280, 290 nm (in Äthanol). NMR. (60 MHz, Lsm. D_2O , interner Standard DSS): $\delta = 3,38$ ppm (s, 2 H); 4,15 ppm (d, 2 H); 4,20 ppm (s, 1 H); 4,40 ppm (t, 1 H); 7,08–7,76 ppm (m, 5 H).

$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N}$	Ber. C 59,01	H 4,95	O 31,45	N 4,59%
(305,3)	Gef. „ 58,94	„ 5,12	„ 31,66	„ 4,72%

Ascorbigen B (V). Der Ätherauszug (vgl. oben) wurde über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der ölige Rückstand wurde auf einer Kieselgelkolonne chromatographiert (Laufmittel Benzol/Äthanol 4:1). Die Ausbeute an V in bezug auf die Ausgangsprodukte betrug 2%. Schwach gelbes, amorphes Pulver, Sinterung ab etwa 70°. $[\alpha]_D^{25} = +12,5^\circ$ ($c = 1,0$ in Methanol). IR.: Banden bei 3400, 1780, 1450, 1330, 1120, 1030, 745 cm^{-1} .

Ascorbigenamid. 1 g IV wurde in 100 ml gesättigtem methanolischen Ammoniak 16 Std. bei –20° stehengelassen. Nach Abdampfen des Lösungsmittels blieb ein gelbliches Öl zurück, das nach Zugabe von Äthylacetat erstarrte. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Äthylacetat/Methanol 0,41 g farblose Kristalle, Smp. 157° (Zers.), $[\alpha]_D^{25} = +15,5^\circ$ ($c = 1,0$ in Methanol). IR.: Banden bei 3450, 3340, 3180, 1650, 1105, 1025, 740 cm^{-1} .

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}_2$	Ber. C 55,89	H 5,63	O 29,79	N 8,69%
(322,3)	Gef. „ 55,60	„ 5,85	„ 29,90	„ 8,50%

Methylglykosid des Ascorbigens. 1,5 g IV wurden bei Zimmertemperatur in 100 ml 2,5-proz. methanolischer Salzsäure 48 Std. geschüttelt. Die rötlichgelbe Lösung wurde mit festem Silbercarbonat neutralisiert, filtriert und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Einengen im Vakuum weisse Kristalle, Ausbeute: 0,91 g. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Methanol Smp. 226°, $[\alpha]_D^{25} = +15,5^\circ$ ($c = 1,0$ in Methanol). IR.: Banden bei 3470, 3375, 1782, 1135, 1080, 750 cm^{-1} .

$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}$	Ber. C 60,18	H 5,37	O 30,07	N 4,38%
(319,3)	Gef. „ 60,03	„ 5,23	„ 30,01	„ 4,62%

Nachweis des Ascorbigens in Weisskohlblättern. Der bei Zimmertemperatur gewonnene Preßsaft aus Kohlblättern wurde durch Celit filtriert und mit Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wurde direkt dünnschichtchromatographisch untersucht. Identifizierte Flecken: Ascorbigen A und 3-Hydroxymethylindol.

Die Mikroanalysen wurden in der mikroanalytischen Abteilung des organisch-chemischen Laboratoriums der ETH (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Bildung des Ascorbigens aus L-Ascorbinsäure und 3-Hydroxymethylindol tritt eine C-Alkylierung am C-2 des Ascorbat-Ions ein, wobei sich 2 diastereomere Ascorbigene bilden.

Agrikulturchemisches Institut
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. GMELIN & A. I. VIRTANEN, Ann. Acad. Sci. fennicae *AII*, Nr. 107 (1961).
- [2] Ž. PROCHÁZKA, Coll. czechoslov. chem. Commun. *19*, 581 (1954).
- [3] E. PIIRONEN & A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. *16*, 1286 (1962).
- [4] Ž. PROCHÁZKA, Coll. czechoslov. chem. Commun. *28*, 544 (1963).
- [5] E. BUNCCEL, K. G. A. JACKSON & J. K. N. JONES, Chemistry & Ind. *1965*, 89.
- [6] K. G. A. JACKSON & J. K. N. JONES, Canad. J. Chemistry *43*, 450 (1965).
- [7] J. THESING, Chem. Ber. *87*, 692 (1954).

114. Synthesen in der Carotinoid-Reihe

21. Mitteilung¹⁾

Synthese von 2,2'-Diketo-spirilloxanthin (P 518) und 2,2'-Diketo-bacterioruberin

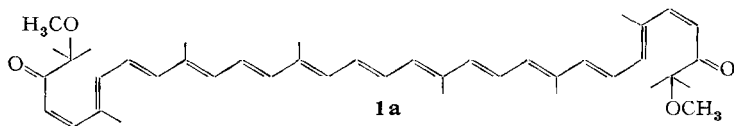
von U. Schwieter, R. Rüegg und O. Isler

(10. II. 66)

Herrn Professor Dr. H. H. INHOFFEN zum 60. Geburtstag gewidmet

2,2'-Diketo-spirilloxanthin (**1a**) hat das längstwellige Absorptionsspektrum natürlich vorkommender Carotinoide. Auf Grund der Lage der Hauptabsorptionsbande in Petroläther fand die Verbindung in Anlehnung an die von T. W. GOODWIN verwendete Kennzeichnung unbekannter Carotinoide [2] unter dem Synonym P 518 Eingang in die Literatur [3]²⁾.

P 518 (**1a**), das aus *Rhodopseudomonas spheroides* [3a] und *R. gelatinosa* [3b] isoliert worden war, wurde anfänglich die Struktur des 2-Keto-spirilloxanthins zugeschrieben [3a]; diese Formulierung wurde später, vor allem unter Berücksichtigung des Kernresonanzspektrums, revidiert [3b].



¹⁾ 20. Mitteilung: [1].

²⁾ Das von T. W. GOODWIN aus *R. gelatinosa* isolierte P 512 [2a] ist sehr wahrscheinlich mit P 518 identisch [4].