

Zum Abbau der Dehydro-L(+)-ascorbinsäure

von Ekkehard Amadori und Willi Weis

Aus dem Biochemischen Institut der Universität, 63 Gießen

Eingegangen am 3. März 1969

Beim Zerfall der Dehydro-L(+)-ascorbinsäure (**1**) in Gegenwart von Aminen und Hydrazinen können die zugehörigen Oxalsäurediamide und -dihydrazide entstehen. Außerdem wird bei der Umsetzung mit Phenylhydrazin das Natriumsalz **4** des 2,3-Bis-phenylhydrazons der Gulonsäure isoliert und durch Umwandlung in 1-Phenyl-3-[L-threo-glyceryl]-4-benzolazo-pyrazolon-(5) (**3**) identifiziert.

Degradation of Dehydro-L(+)-ascorbic Acid

By degradation of dehydro-L(+)-ascorbic acid (**1**) in the presence of amines and hydrazines the corresponding diamides and dihydrazides of oxalic acid may be formed. On the other hand the sodium salt **4** of the 2,3-bis-phenylhydrazone of gulonic acid can be isolated when **1** is treated with phenylhydrazine. This salt can be converted into 1-phenyl-3-[L-threo-glyceryl]-4-benzeneazo-5-pyrazolone (**3**).

Beim anaeroben Zerfall der Dehydro-L(+)-ascorbinsäure (**1**) in *neutraler* wäßriger Lösung entstehen, allerdings nicht quantitativ, Oxal- und Threonsäure¹⁾. Wir haben den Abbau von **1** nun in Gegenwart von Ammoniak, Anilin und Phenylhydrazin durchgeführt und gefunden, daß dann Oxamid, Oxalsäuredianilid und Oxalsäurediphenylhydrazid in Ausbeuten bis zu 20% d. Th. entstehen, berechnet auf die Bildung von 1 Mol dieser Verbindungen aus 1 Mol **1**.

Bei der Umsetzung von **1** mit Anilin entsteht nach Angaben von Hasselquist²⁾ das Dianiliniumsalz des Monoanils der Enolform von 2,3-Dioxo-gulonsäure. Mit Phenylhydrazin soll **1** lediglich ein Osazon liefern^{3,4)}, dessen Konstitution kürzlich aufgeklärt wurde⁵⁾. Beim Abbau von **1** in Gegenwart der entsprechenden Stickstoff-Verbindungen wurden, allerdings *nur* mit Wasserstoffperoxid als Oxydationsmittel, auch Oxamid, Oxalyldihydrazid sowie eine Reihe substituierter Diamide der Oxalsäure gefunden⁶⁾.

¹⁾ Th. Moll und H. Wieters, Mercks Jber. **50**, 65 (1936).

²⁾ H. Hasselquist, Ark. Kemi **4**, 374 (1952).

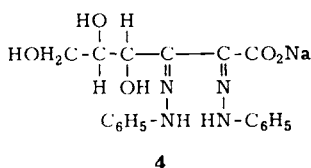
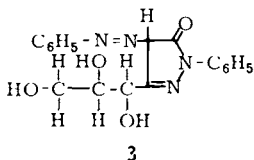
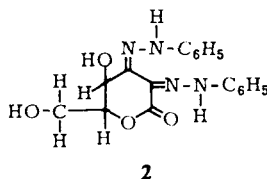
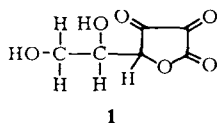
³⁾ R. W. Herbert, E. L. Hirst, E. G. V. Percival, R. J. W. Reynolds und F. Smith, J. chem. Soc. [London] **1933**, 1270.

⁴⁾ H. Ohle und G. Böckmann, Ber. dtsh. chem. Ges. **67**, 1750 (1934).

⁵⁾ H. El Khadun und S. H. El Ashry, J. chem. Soc. [London] **1968 C**, 2247.

⁶⁾ J. Parrod, Bull. Soc. chim. France **5**, 938 (1938); **6**, 392 (1939).

Das Phenylsazon **2** aus **1** läßt sich durch Behandeln mit Natriumhydroxid und anschließendes Ansäuern in das 1-Phenyl-3-[L-threo-glyceryl]-4-benzolazo-pyrazolon-(5) (**3**) überführen⁴⁾. Das hierbei als unbeständige Zwischenstufe auftretende Bisphenylhydrazon der freien 2,3-Dioxo-gulonsäure⁴⁾ konnten wir als Natriumsalz **4** isolieren. Aus der wäßrigen Lösung von **4** scheidet sich bereits beim Stehenlassen **3** ab.



Bei der dünnschichtchromatographischen Auftrennung der Reaktionsprodukte von **1** mit Phenylhydrazin tritt neben vier noch nicht identifizierten Substanzen sogar die freie Säure von **4** auf. Sie konnte ebenfalls durch Umwandlung in **3** charakterisiert werden.

Wir danken Herrn Prof. Dr. HJ. Staudinger für die Ermöglichung dieser Arbeit. Der Firma E. Merck AG., Darmstadt, danken wir für die Überlassung von L-(+)-Ascorbinsäure.

Beschreibung der Versuche

Reaktion von Dehydro-L-(+)-ascorbinsäure (1). 1) *Einwirkung von Ammoniumhydroxid:* 1 g (5.7 mmol) kristallisierte Dehydro-L-(+)-ascorbinsäure⁷⁾ (**1**) wird mit 10 ccm 25proz. Ammoniumhydroxid übergossen und unter Inertgas im verschlossenen Gefäß 12 Stdn. bei ca. 20° stengelassen. Die zunächst klare Lösung trübt sich alsbald. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Ausbeute 0.12 g (24%), Schmp. > 300° (aus Wasser). Das IR-Spektrum des erhaltenen Produktes ist identisch mit dem von authent. Oxamid.

Aus einem Ansatz mit 5 g (29 mmol) **1** und 20 ccm 25proz. Ammoniumhydroxid erhält man unter gleichen Bedingungen 500 mg Oxamid. Die Mutterlauge wird eingedampft, mit wenig Wasser aufgenommen und bis zur beginnenden Trübung mit Äthanol versetzt. Aus der erwärmten und wieder abgekühlten Lösung kristallisierten 1.3 g (36%) Ammoniumoxalat vom Schmp. 236–237°.

2) *Einwirkung von Anilin:* 1.74 g (10 mmol) **1** werden in 20 ccm Äthanol suspendiert und mit 5 g (54 mmol) Anilin 1 Sde. auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Die dunkle Lösung

⁷⁾ HJ. Staudinger und W. Weis, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **337**, 284 (1964).

wird anschließend i. Vak. eingedampft; der Rückstand wird aus 10 ccm Äthanol umkristallisiert und ergibt 0.24 g (10%) *Oxalsäuredianilid* vom Schmp. 247°. Das Produkt ist mit authent. Substanz identisch.

3) *Einwirkung von Phenylhydrazin*: 1.74 g (10 mMol) **1** werden in 10 ccm Wasser bei 60° gelöst und mit 2.16 g (20 mMol) *Phenylhydrazin* und 0.5 ccm Eisessig 1 Stde. auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Der Niederschlag wird filtriert und nach dem Trocknen an der Luft 2mal mit je 50 ccm Äthanol ausgekocht. Aus der äthanolischen Lösung kristallisieren 2.6 g (73%) *5-Hydroxy-3,4-bis-phenylhydrazono-6-hydroxymethyl-tetrahydro- α -pyron* (**2**) vom Schmp. 217°. Der beim Auskochen verbleibende gelbe Rückstand wird aus Benzol umkristallisiert. Man erhält 0.4 g (15%) *Oxalsäure-bis-phenylhydrazid* vom Schmp. 274°. Das Produkt ist mit authent. Substanz identisch.

4) *2,3-Phenyl-osazon **4** des Natriumgulonats*: Man löst 0.5 g (1.42 mMol) **2** in 10 ccm 2*n* NaOH (siedendes Wasserbad). Nach Filtrieren und Abkühlen fällt ein kristallines Produkt aus, das abfiltriert und i. Vak. über Phosphorpentoxid getrocknet wird. Dieses Produkt wird in Aceton gelöst und abgesaugt. Nach dem Eindampfen erhält man 0.45 g (77%) des Natriumsalzes **4**.

$C_{18}H_{19}N_4O_5Na \cdot H_2O$ (412.3) Ber. C 54.44 H 5.13 H_2O 4.37

Gef. 54.65 5.17 4.30

5) *Dünnschichtchromatographische Trennung der Umsetzungsprodukte von **1** mit Phenylhydrazin*: Ca. 1 ccm der bei Versuch 3) erhaltenen wäbr. Mutterlauge wird i. Vak. eingedampft, in 5 ccm Methanol aufgenommen, auf Dünnschichtplatten (20 $\times$ 20 cm, Kieselgel HF₂₅₄, Fa. E. Merck AG., Darmstadt, 0.5 mm Schichtdicke) aufgetragen und mit Benzol/Aceton (44.5 : 55.5)⁸⁾ bei Kammerfüllung entwickelt:

Substanz	R_F -Wert
Phenylosazon 2 der Dehydro-L(+)-ascorbinsäure	0.86
1-Phenyl-3-[L-threo-glyceril]-4-benzolazo-pyrazolon-(5) (3)	0.49
2,3-Phenyl-osazon 4 der Gulonsäure	0.72
4 nicht scharf getrennte Produkte ^{a)}	0.3—0.45

a) Nach den IR-Spektren Phenylosazone, die aus Bruchstücken der Dehydro-L(+)-ascorbinsäure entstehen und noch nicht näher untersucht wurden.

Das Phenylosazon **4** kann mit Methanol eluiert und durch Ansäuern mit Essigsäure in **3** übergeführt werden.

⁸⁾ E. Bancher, H. Scherz und K. Kaindl, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1964**, 1043.