

Absorptionsspektrographische Studien an l-Ascorbinsäure I.*

Von

E. Schauenstein

(unter experimenteller Mitarbeit von **Inge Ochsenfeld-Lohr**,
Helga Puxkandl und **Margret Stampfer**).

Aus dem Institut für theoretische und physikalische Chemie der Universität
Graz.

Mit 9 Abbildungen.

(Eingelangt am 6. März 1948. Vorgelegt in der Sitzung am 11. März 1948.)

In den vorliegenden Untersuchungen soll im 1. Teil die Einwirkung verschiedener Oxydationsmethoden auf Ascorbinsäure absorptionspektrographisch eingehend studiert werden, um zu möglichst quantitativen Aussagen über die Absorptionseigenschaften des reversiblen Oxydationsproduktes der Ascorbinsäure, der sogenannten Dehydroascorbinsäure zu kommen. Diese Aufgabe erscheint schon deshalb reizvoll, weil über das Absorptionsspektrum dieses interessanten Stoffes in der Literatur nur äußerst spärliche Angaben zu finden sind.

Die Messung der Eigenabsorption von Dehydroascorbinsäure läßt aber auch Einblicke in den Ablauf der vor allem biologisch wichtigen Autoxydation der Ascorbinsäure erwarten (2. Teil). Solche Prozesse wurden bisher im überwiegenden Maße mit Methoden untersucht, die lediglich auf das Reduktionsvermögen von Ascorbinsäure ansprechen und aus diesem Grunde keine tiefergehende Kenntnis der Vorgänge vermitteln.

Mit den im ersten und zweiten Teil gewonnenen Resultaten sollen schließlich die Grundlagen für eine weitgehend spezifische und neuartige Erkennungs- bzw. quantitative Bestimmungsmethodik der Ascorbinsäure entwickelt werden.

* Vgl. hierzu *E. Schauenstein*, *Chemie* **56**, 156 (1943) bzw. *R. Czmiel*, *W. Halden* und *E. Schauenstein*, *Naturwiss.* **30**, 586 (1942). — Eine Zusammenfassung der vorliegenden Arbeit erschien bereits in dieser Zeitschrift [*Mh. Chem.* **78**, 415 (1948)] als vorläufige Mitteilung.

Zunächst sei kurz das Wesentlichste zur Beschreibung der Aufnahmemethodik und Definition der Meßgrößen gesagt.

Wir arbeiteten ausschließlich nach dem Verfahren mit Vergleichsspektren und zentrisch in den Strahlengang eingeschalteten, rotierenden Sektorblenden, wie es in der Literatur bereits ausführlich beschrieben worden ist.¹ Die Auswertung der Doppelspektren erfolgte durchwegs subjektiv im Meßprojektor nach *Scheibe-Fuess*. Als photographisches Aufnahmematerial wurden Agfa-„Mikro“- bzw. Agfa-„Ultraviolett“-Platten 9×12 cm, als Lichtquelle ein kondensierter Wolframpfunke verwendet. Die Fehlergrenze der Aufnahmemethodik betrug $\pm 2,6\%$, das ist der bei diesem Verfahren durchaus übliche Wert.

Wir bezeichnen nun mit der Extinktion E den dekadischen Logarithmus des Verhältnisses $\frac{\Phi_i}{\Phi_e}$, wobei Φ_i die Intensität des ein- und Φ_e die Intensität des austretenden Lichtstrahles bedeutet. Ferner ist der „Extinktionsmodul“ $m = \frac{E}{d}$, also die auf die Einheit der Schichtdicke (1 cm) bezogene Extinktion, während ϵ , der „molare dekadische Extinktionskoeffizient“, gegeben ist durch $\epsilon = \frac{m}{c}$ ($c =$ Mole absorbierender Substanz/Liter Lösung). Zur graphischen Darstellung wird der Logarithmus des Extinktionskoeffizienten ϵ gegen die Wellenzahl $\nu' \left(= \frac{1}{\lambda} \right) \text{mm}^{-1}$ aufgetragen.

Das Absorptionsspektrum von Ascorbinsäure wurde bereits von einer Reihe von Autoren eingehend untersucht.²

Sie besitzt demnach bei p_H 3 ein scharfes Absorptionsmaximum bei 4100 mm^{-1} , das der mit der Carbonylgruppe konjugierten Äthylenbindung zukommt.^{3, 4}

In drei verschiedenen Verfahren wurde nun Ascorbinsäure einer Oxydation unterworfen, die – wie bei den zwei ersten Methoden in der Literatur angegeben wird – zur Bildung von Dehydroascorbinsäure führen sollen.

1. Oxydation mit p-Benzochinon.⁵

(Versuche mit *M. Stampfer*.)

Ascorbinsäure wird in wäßriger Lösung mit einer ätherischen Lösung von p-Benzochinon⁵ geschüttelt und das gebildete Hydrochinon ausgeäthert; hierbei sollen 95% der Ausgangsmenge umgesetzt werden.

Nach dem erstmaligen, nach dreitägigem Schütteln (bei 20°C) erfolgten Abtrennen der ätherischen Phase erhält man die in Abb. 2 mit *I*

¹ *H. v. Halban, G. Kortüm und B. Szigethi, Z. Elektrochem.* **42**, 628 (1936).

² *H. Mohler, Das Absorptionsspektrum der chemischen Bindung.* Jena: Verlag G. Fischer. 1943.

³ *H. Rudy, Naturwiss.* **24**, 497 (1936).

⁴ *G. Scheibe, Ber. dtsh. chem. Ges.* **58**, 594 (1925).

⁵ *Mercks Jahresber.* **50**, 70 (1931).

bezeichnete Absorptionskurve der wäßrigen Lösung. Das Maximum bei 3470 mm^{-1} läßt beim Vergleich mit der Wellenzahl des Hydrochinonmaximums (3480) erwarten, daß an der Absorption noch Hydrochinon wesentlich beteiligt ist, zumal dessen Absorptionsintensität ($\log \epsilon_{\max} = 3,45$), wie später ersichtlich werden wird, die der vermuteten Dehydroascorbinsäure um rund eine Zehnerpotenz übertrifft. Eine quantitative Auswertung ergab einen Gehalt von $\leq 0,9\%$ Hydrochinon. Deshalb

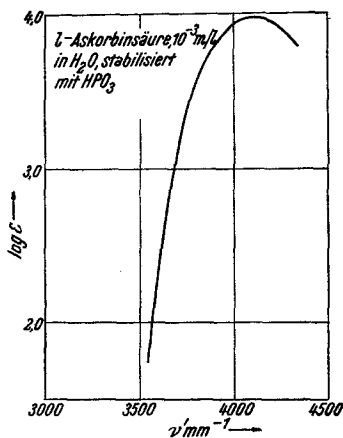


Abb. 1.

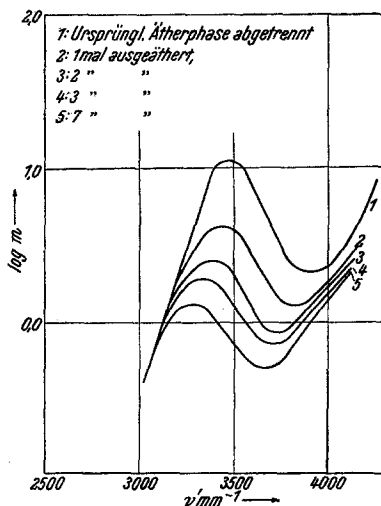


Abb. 2.

wurde die wäßrige Phase noch weiter ausgeäthert und nach dem Abtrennen der Ätherschicht die Absorption der gelblich gefärbten wäßrigen Phase gemessen (vgl. hierzu Abb. 2, Kurven 2 bis 5). Das Maximum verschiebt sich nach längeren Wellen bei gleichzeitiger Extinktionserniedrigung und bleibt nach der siebenten Ausschüttelung bei $\log m = 0,102$ und $\nu' = 3300 \text{ mm}^{-1}$ (Abb. 3, Tabelle 1) konstant. Da die Oxydation sicher zu einem Gleichgewicht führt und außerdem nicht bekannt ist, ob beim Ausäthern nicht auch Dehydroascorbinsäure teilweise aus der wäßrigen Lösung entfernt wird, kann zunächst nur die Wellenzahl, nicht aber der Extinktionskoeffizient ϵ des Spektrums des Oxydationsproduktes der Ascorbinsäure ausgemessen werden.

2. Oxydation mit Wasserstoffperoxyd.

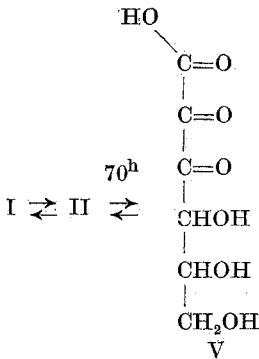
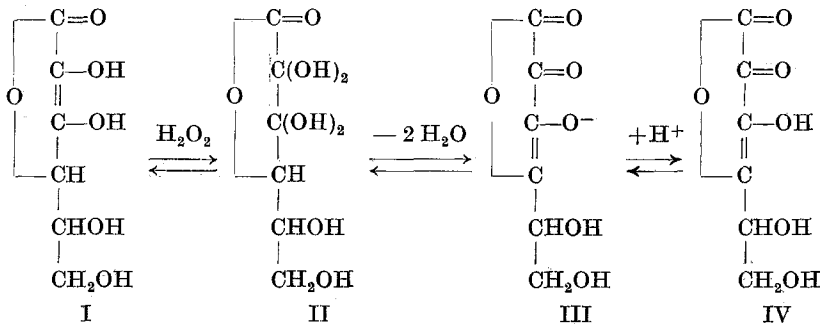
Diese Oxydation von Ascorbinsäure wurde von Ghosh und Rhakshit⁶ zur Herstellung reiner wäßriger Lösungen von Dehydroascorbinsäure

⁶ J. C. Ghosh und P. C. Rhakshit, Biochem. Z. 299, 401 (1938).

Tabelle 1.

	Absorptionsmaximum der wäßrigen Phase	
	m_{\max}	$n'_{\max} \text{ mm}^{-1}$
Nach Abtrennen der ursprünglichen Ätherschicht	10,79	3470
1mal ausgeäthert	3,98	3440
2 „ „	2,40	3400
3 „ „	1,81	3350
4 „ „	1,54	3300
5 „ „	1,29	3300
6 „ „	1,26	3300
7 „ „	1,26	3300

angewendet, um daran die physikalischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften von Dehydroascorbinsäure exakt studieren zu können, da die Lösungen als frei von störenden Stoffen angesehen werden konnten. Die durch kolloidales Platin katalysierte Einwirkung von H_2O_2 auf Ascorbinsäure wird von den Autoren folgendermaßen interpretiert:



Der Vorgang wird nach 5 Stunden als vollständig abgeschlossen betrachtet, worauf die vollständige Zersetzung des H_2O_2 schließen ließ. Da das p_H der Lösung praktisch konstant blieb, nehmen Ghosh und Rhakshit eine teilweise Dissoziation des gebildeten Produktes nach vorhergehender Dehydratisierung an (II \rightleftharpoons III).

Beim Altern der Lösung (nach etwa 3 Tagen) schließen Ghosh und Rhakshit auf Grund polarimetrischer Messungen, des unveränderten p_H -Wertes der Lösung und aus einer „der Ascorbinsäure ziemlich ähnlichen Absorptionsbande“, daß

im Endstadium II in ein entsprechend auf die Seite von IV verschobenes Gleichgewicht eintritt (II \rightleftharpoons IV).

Dagegen nahm *Herbert*⁷ in beispielsweise mit Jod oxydierten Ascorbinsäurelösungen die Gleichgewichte $I \rightleftharpoons II \rightleftharpoons V$ (s. S. 490) an. Für das Vorliegen von V führt er insbesondere eine selektive Bande bei 2900 Å. an. Man erkennt aus den geschilderten Verhältnissen eine beträchtliche Divergenz der von den Autoren bezüglich der Oxydation von Ascorbinsäure vertretenen Ansichten.

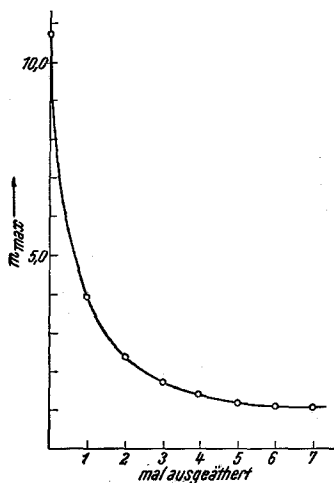


Abb. 3.

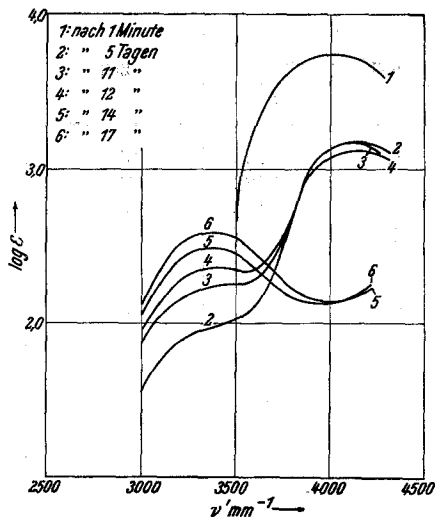


Abb. 4.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigten nun folgendes Bild:

Behandelt man eine an Ascorbinsäure 0,01- bis 0,001 molare Lösung in Wasser mit H_2O_2 in etwa der doppelten Menge, als theoretisch berechnet, in Gegenwart einer Spur von Platinschwarz, so beginnt lebhaft Gasentwicklung, die Lösung bleibt rund 100 Stunden lang farblos und färbt sich dann schwach gelb ($20^\circ C$). Die in bestimmten Zeiten gemessene UV-Absorption ergab die in Abb. 4 und Tabelle 2 dargestellten Resultate, die die Angaben und Folgerungen von *Ghosh* und *Rhakshit* nur teilweise bestätigen.

Man erkennt, daß zunächst ganz allgemein die Reaktion weder nach 5 Stunden noch nach 70 Stunden beendet ist, sondern sich über einen Zeitraum von insgesamt 17 Tagen erstreckt. Innerhalb der ersten 90 Stunden sinkt das Absorptionsmaximum der Ascorbinsäure von $\log \epsilon = 3,98$ auf $\log \epsilon \cong 3,0$, das ist auf rund 13% der Anfangsintensität ab, ohne daß sonstige Veränderungen im Spektrum wahrzunehmen wären. Nach 93 Stunden beginnt im Gebiet von zirka 3400 mm^{-1} eine schwache Inflexion aufzutreten, die nun ständig an Intensität zunimmt, wobei

⁷ R. W. Herbert, J. chem. Soc. London 1933, 1270.

die Extinktion bei 4100 mm^{-1} so lange auf $\log \varepsilon \cong 3,0$ konstant bleibt, bis die Intensität des neuen niederfrequenten Maximums mehr als die Hälfte der schließlichen Endabsorption erreicht hat. Hierauf sinkt die Absorption bei 4100 mm^{-1} rasch auf den Endwert ($\log \varepsilon = 2,15$) ab, während sich das neue Band seinerseits dem Endwert von $\log \varepsilon = 2,58$ nähert.

Tabelle 2.

Hauptband $\nu'_{\text{max}} = 4100 \text{ mm}^{-1}$		Zeit	II. Band $\nu'_{\text{max}} = 3370 \text{ mm}^{-1}$		
$\log \varepsilon_{\text{max}}$	ε_{max}		$\log \varepsilon_{\text{max}}$	ε_{max}	% Endkörper
3,98	9550	0'	—	—	
3,73	5370	1'	—	—	
3,38	2400	30'	—	—	
3,28	1905	8 ^h	—	—	
3,15	1413	25 ^h	—	—	
2,98	955	93 ^h	Erste Andeutung		< 5
3,15	1413	125 ^h	1,92	83	21,9
3,15	1413	148 ^h	1,99	98	25,7
3,15	1413	11 Tage	2,26	182	47,9
3,15	1413	12 „	2,37	234	61,5
2,15	141	14 „	2,46	288	75,9
2,13	135	17 „	2,58	380	100

Man ersieht daraus, daß die Reaktion über ein Zwischenstadium verläuft, das dem Spektrum nach sehr gut als ein Gleichgewicht $\text{II} \rightleftharpoons \text{IV} \rightleftharpoons \text{III}$ im Sinne von *Ghosh* und *Rhakshit* angesehen werden könnte und in dem der Anteil der Formen IV und III zusammen etwa 13% der ursprünglich vorhandenen, bei 4100 mm^{-1} absorbierenden Moleküle ausmacht, während der Rest im untersuchten Spektralbereich nicht absorbiert, was auf II schließen läßt. In der nun folgenden, von *Ghosh* und *Rhakshit* nicht mehr untersuchten Reaktionsphase wird aus dem Zwischengleichgewicht $\text{II} \rightleftharpoons \text{IV} \rightleftharpoons \text{III}$ der Endkörper gebildet, und zwar zunächst überwiegend aus der im Überschuß vorhandenen Form II. Erst im letzten Stadium wandeln sich dann auch IV bzw. III in den Endkörper um, der — in eindeutigen Gegensatz zu den Angaben von *Ghosh* und *Rhakshit* — ein von der Ascorbinsäure sehr beträchtlich verschiedenes Absorptionsspektrum besitzt. Der in erster Näherung gemeinsame Schnittpunkt der Absorptionskurven dieses zweiten Umwandlungsgleichgewichtes deutet — wie später noch (2. Teil) mathematisch bewiesen werden wird — darauf hin, daß der Endkörper in einem echten Gleichgewicht A bzw. A' \rightleftharpoons B, also ohne ein weiteres Zwischenprodukt entsteht. Der schließlich gebildete Endstoff absorbiert fast genau bei der gleichen Wellenzahl wie das Endprodukt bei der Oxydation von Ascorbinsäure durch p-Benzochinon ($\nu' = 3370^{-1} \text{ mm}$). Er besitzt

sicherlich nicht mehr die Gruppierung $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$. Da nun beispielsweise Diacetyl bei 3490 mm^{-1} , Acetylaceton aber erst bei 3610 mm^{-1} absorbieren,⁸ läßt die Absorptionslage des Oxydationsproduktes bei 3370 mm^{-1} mit aller Wahrscheinlichkeit ein System von drei miteinander konjugierten $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$ -Chromophoren annehmen.

Das Ergebnis unserer Untersuchung der Oxydation von Ascorbinsäure durch Wasserstoffperoxyd, wonach diese Reaktion zu einem relativ sehr stabilen, tagelang beständigen Zwischenzustand führt, erscheint auch biologisch sicher interessant. Spielt doch die Einwirkung von H_2O_2 (gebildet unter der Einwirkung der Ascorbinsäureoxydase) auf Ascorbin-

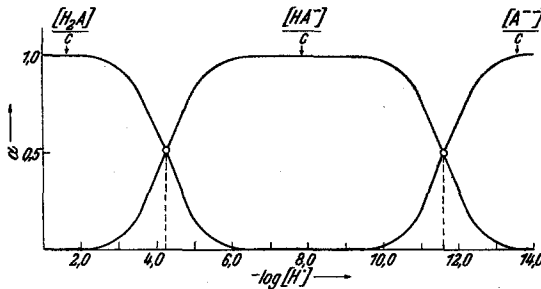


Abb. 5.

säure, wobei über ein Flavonderivat tatsächlich Dehydroascorbinsäure entsteht, bei der biologischen Oxydation eine entscheidende Rolle (*A. Szent-Györgyi*).

In diesem Zusammenhang scheint es auch interessant, die Absorption der beiden Ionen der Ascorbinsäure zu messen (Versuche mit *H. Puzkandl*).

Zunächst wurde nach dem von *Michaelis*⁹ gegebenen Rechenansatz für die Dissoziation mehrbasischer Säuren der jeweils im Dissoziationsgleichgewicht vorhandene Bruchteil an undissoziierter Säure, ein- und zweiwertigem Anion in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration berechnet und in den Kurven der Abb. 5 dargestellt. Zur Durchführung der Rechnung benötigt man die Größe der beiden Dissoziationskonstanten. Die in der Literatur mitgeteilten Werte sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Die Größe für K_1 wurde durch Leitfähigkeitsmessungen nochmals bestimmt; wir erhielten experimentell etwa das Mittel aus den Literatur-

⁸ *K. Dimroth*, *Angew. Chem.* **52**, 545 (1939).

⁹ *L. Michaelis*, *Die Wasserstoffionenkonzentration*, Bd. I. Berlin: Springer-Verlag. 1922.

werten und verwendeten für die Rechnung den eigenen Meßwert. K_{II} wurde als Mittelwert zu $2,34 \cdot 10^{-12}$ angesetzt.

Tabelle 3.

	Birch und Harris ¹⁰	Karrer und Schwarzenbach ¹¹	Ghosh und Rhakshü ¹²	Eigene Messung
K_I	$6,77 \cdot 10^{-5}$	$4,10 \cdot 10^{-5}$	$6,30 \cdot 10^{-5}$	$5,06 \cdot 10^{-5}$
K_{II}	$2,70 \cdot 10^{-12}$	$1,63 \cdot 10^{-12}$	$2,70 \cdot 10^{-12}$	—

Man erkennt die p_H -Bereiche, in denen jede der drei Dissoziationsstufen praktisch ausschließlich Träger der Lichtabsorption sein wird. Es sind die gleichen Bereiche, in denen *Carpeni*¹³ seinerzeit fand, daß

die Wellenlänge des Absorptionsmaximums, das sich bei Erhöhung des p_H -Wertes nach längeren Wellen verschiebt, praktisch konstant

bleibt. $\left(\frac{d\lambda_{\max}}{dp_H} = 0\right)$ Somit darf

die von uns neuerlich vermessene Absorptionskurve von Ascorbinsäure bei p_H 1,0 (in Salzsäure-Glykokollpuffer) der undissoziierten Säure, die bei p_H 8,0 (Primär-Sekundärphosphatpuffer) gemessene dem einwertigen und die bei p_H 14,0 (in 1,0 n Natronlauge) erhaltene dem zweiwertigen Anion zugeordnet werden.

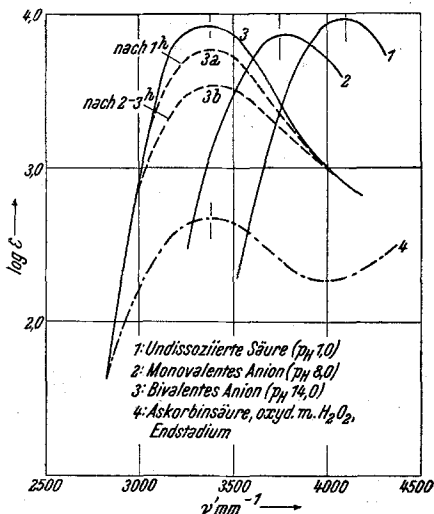


Abb. 6.

Abb. 6 veranschaulicht die bathochrome Wirkung der Ionisierung der beiden Hydroxyle an den Kohlenstoffatomen der Doppel-

bindung. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit Effekten, wie sie z. B. von *Ley* an Benzoylessigester¹⁴ oder von *Pestemer* an Phenol¹⁵ oder *Holiday* an Tyrosin¹⁶ beobachtet wurden. — Die Rotverschiebung darf allgemein als Lockerung der $\text{C}=\text{C}$ -Bindung gedeutet werden und ist für den

¹⁰ Biochemic. J. 27, 595 (1933).

¹¹ Helv. chim. Acta 17, 58 (1933).

¹² Biochem. Z. 289, 395 (1936).

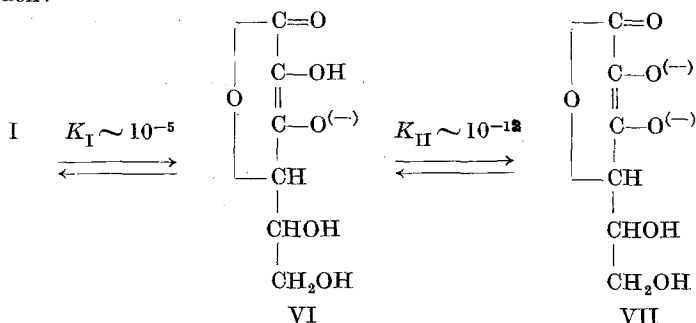
¹³ G. Carpeni, Helv. chim. Acta 21, 1031 (1938).

¹⁴ H. Ley, Z. physik. Chem., Abt. A 94, 424 (1920).

¹⁵ M. Pestemer und H. Flaschka, Mh. Chem. 71, 325 (1938).

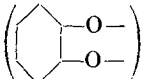
¹⁶ E. R. Holiday, Biochemic. J. 30, 1803 (1936).

Übergang von der undissoziierten Säure zum einwertigen Anion fast genau gleich groß, wie für den Übergang vom ein- zum zweiwertigen Anion ($\Delta\nu' = 350 \text{ mm}^{-1}$). Daraus darf mit den von *Ghosh* und *Rhakshit* auf Grund polarimetrischer Messungen gewonnenen Aussagen geschlossen werden, daß auch bei der Ionisation des zweiten Hydroxyls der Endiolgruppe die Laktonstruktur erhalten bleibt. Somit darf die Konstitution der beiden Ionenformen der Ascorbinsäure folgendermaßen formuliert werden:



Für die Konstitution des bei der Oxydation mit H_2O_2 gebildeten Endproduktes mit dem Maximum bei 3370 mm^{-1} ergeben sich hieraus folgende Gesichtspunkte:

Abb. 6 zeigt, daß die Wellenzahl des Maximums des bivalenten Anions bei noch kaum veränderter Extinktion identisch ist mit der Wellenzahl des Maximums des Oxydationsproduktes. Das bivalente Anion VII absorbiert also bereits im Spektralgebiet des Carbonylchromophors und erscheint somit als Zwischenzustand zwischen undissoziierter und oxydierter Säure.¹⁷ Ein ganz ähnliches Verhalten fand z. B. auch *Großmann* bei Acetessigester.¹⁸ Ferner besitzt das Brenzkatechin nach Mes-

sungen von *Saint-Maxen* und *Dureuil*¹⁹ in alkalischer Lösung 

ein Spektrum, das bereits den Typ des o-Chinons aufweist.²⁰ Den gleichen Effekt läßt übrigens auch Hydrochinon, nicht aber Resorzin beobachten.

¹⁷ Das zweiwertige Anion ist dementsprechend gegen Oxydationseinflüsse empfindlicher als die beiden anderen Dissoziationsstufen. Wie die Kurven 3 b und c der Abb. 6 zeigen, sinkt auch bei Verwendung von reinstem, luftfreiem Wasser als Lösungsmittel die Bande innerhalb weniger Stunden merklich ab.

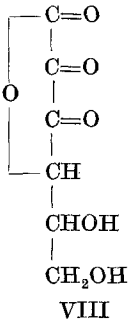
¹⁸ *P. Großmann*, Z. physik. Chem., Abt. A 109, 304 (1924).

¹⁹ *A. Saint-Maxen* und *E. Dureuil*, C. R. Acad. Sci. Paris 197, 1411 (1933).

²⁰ Eine Parallelität zwischen l-Ascorbinsäure und Brenzkatechin, die chemisch in der beiden Stoffen gemeinsamen Dienolgruppe ---C=C--- zum



Dadurch erscheint die Triketostruktur des bei der Oxydation mit H_2O_2 gebildeten Endproduktes zusätzlich belegt. Allerdings kann auch die Heranziehung des Absorptionsspektrums des bivalenten Anions die Frage nicht entscheiden, ob der Körper in der von *Herbert* angenommenen Form V oder mit unverändertem Laktoring, also gemäß Formel VIII, vorliegt, da der Brückensauerstoff die erste C=O-Gruppe gleich stark beeinflusst wie eine Hydroxylgruppe, worauf z. B. *Mohler*² hingewiesen hat.



In den folgenden Versuchen kann nun gezeigt werden, daß sich die oxydierte Form der Ascorbinsäure mit den drei C=O-Gruppen nicht nur bei tagelangem Stehen der Lösung, sondern schon in wenigen Minuten bilden kann.

3. Elektrochemische Oxydation.

(Versuche mit *I. Ochsenfeld-Lohr*.)

Unterwirft man in einem Tondiaphragma eine 0,001 m Lösung von Ascorbinsäure in 0,1 n HCl der anodischen Oxydation an einem Platinnetz, so tritt im Endstadium (bei 0,5 A und einer Klemmspannung von 10 bis 12 V nach 5 Min.) gleichfalls ein Oxydationsprodukt mit einem Absorptionsmaximum bei 3150 mm^{-1} auf.

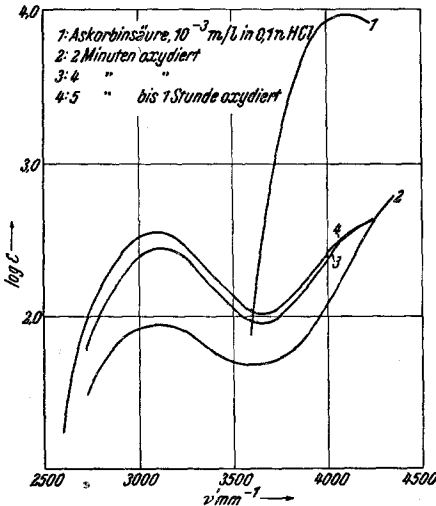


Abb. 7.

Die Lösung ist schwach gelblich verfärbt. Der Extinktionskoeffizient im Maximum wurde durch eine Reihe von Messungen, die eine normale Streuung von $\pm 2,5\%$ ergaben, zu $\log \epsilon_{\max} = 2,56$ ($\epsilon_{\max} = 361,0$) bestimmt und unterscheidet sich damit nur um einen innerhalb der Fehlergrenze liegenden Betrag vom Extinktionskoeffizienten des Endproduktes bei der Oxydation mit Wasserstoff-

Ausdruck kommt, tritt aber auch in biologischer Hinsicht auffallend in Erscheinung. Bei der biologischen Oxydation der Pflanzen fungiert nämlich nicht Bernsteinsäure als Wasserstoffüberträger, sondern ent-

weder Brenzkatechin oder l-Ascorbinsäure. In beiden Fällen treten Oxydasen (Metallproteide) auf, unter deren Einfluß beide Stoffe in die entsprechenden reversiblen Oxydationsformen (o-Chinon bzw. Dehydroascorbinsäure) übergeführt werden. Vgl. hierzu z. B. *W. Bladergroen*, Physikalische Chemie in Medizin und Biologie. Basel: Wepf und Cie. 1945.

peroxyd. Das wesentlich veränderte Lösungsmilieu bedingt eine geringfügige Verschiebung des Maximums, das als typisches C=O-Band gegen Lösungsmittelleffekte besonders empfindlich ist.⁸ Interessanterweise tritt diese Verbindung nur in 0,1 n HCl auf, während elektrochemische Oxydationen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen in Schwefelsäure, Borsäure, Metaphosphorsäure, Ameisensäure, Glykokoll, Weinsäure, Oxalsäure lediglich ein Absinken der Hauptbande beobachten ließen. Nunmehr wurde die Reversibilität der oxydierten Ascorbinsäure zunächst dadurch untersucht, daß die elektrochemisch oxydierte salzsaure Lösung einer

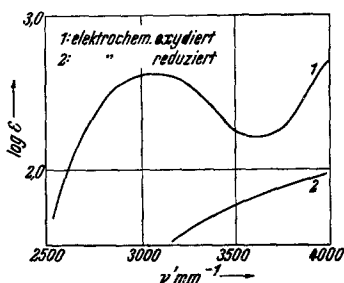


Abb. 8.

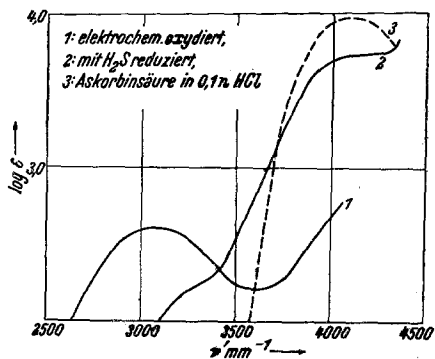


Abb. 9.

kathodischen Reduktion unterworfen wurde. Abb. 8 zeigt, daß dadurch das Ausgangssystem $\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$ nicht wieder hergestellt werden kann.

Die Reduktion verläuft offenbar zu heftig und führt zu einer irreversiblen Veränderung des Moleküls und sicher nicht mehr zur Ausgangsform zurück. — Übrigens wurde die elektrochemische Reduktion von Dehydroascorbinsäure schon von Günther²¹ versucht. Er erhielt in metaphosphorsaurer Lösung an Platin einen Körper, der auf Dichlorphenol-Indophenol und auf Methylenblau reduzierend wirkt. Damit ist allerdings nicht schlüssig bewiesen, ob dieser Stoff auch tatsächlich wieder Ascorbinsäure ist, da die Reaktion mit den genannten Stoffen völlig unspezifisch für Ascorbinsäure ist.

Wohl aber gelang es uns, durch Anwendung von Schwefelwasserstoff, sowohl das Maximum bei 3150 mm^{-1} auf etwa 35% der ursprünglichen Höhe zu erniedrigen, als auch das Maximum bei 4100 mm^{-1} wieder zu etwa 60 bis 65% der Anfangsextinktion zu erhalten. Das Ausmaß der Reduktion hängt außerordentlich empfindlich von der Reinheit des H_2S , des zum Vertreiben von H_2S verwendeten Stickstoffes sowie des Lösungs-

²¹ E. Günther, Biochem. Z. 814, 277 (1943).

mittels ab; ferner ist auch die Geschwindigkeit des Arbeitens infolge der leichten Oxydierbarkeit von Ascorbinsäure durch Luftsauerstoff von Einfluß. Eine 100%ige Reversibilität konnte ohne Anwendung besonderer Methoden nicht erzielt werden. Es wäre nun denkbar, daß bei der Oxydation neben der Triketoform auch die hydratisierte Form II (vgl. S. 490 und 492) entsteht; in diesem Falle könnte nichts Sicheres darüber gesagt werden, ob beide Formen oder etwa nur eine von ihnen bei der Reduktion wieder Ascorbinsäure ergeben. Eine endgültige Klärstellung dieser Frage wird erst möglich, wenn das ultraviolette Absorptionsspektrum der Triketoform in einem Lösungsmittel gemessen werden konnte, das die Bildung einer hydratisierten Form mit Sicherheit ausschließen läßt. — Wie im 2. Teil näher ausgeführt werden wird, konnte jedoch (in metaphosphorsaurer Lösung) eine Oxydation von l-Ascorbinsäure beobachtet werden, bei der sich Ascorbinsäure praktisch quantitativ in die Triketoform umwandelt, die sich außerdem im Tierversuch als biologisch wirksam erwies. Damit darf man aller Wahrscheinlichkeit nach die durch elektrochemische Oxydation in salzsaurer Lösung erhaltene Triketoform als reversibel oxydierte Ascorbinsäure ansehen und ihr die Konstitutionsformel VIII zuteilen.

Herrn Prof. Dr. *W. Halden* sind wir für zahlreiche wertvolle Anregungen zu dieser Arbeit und für liebenswürdige Beistellung von Substanzen und Literatur, Herrn Prof. Dr. *O. Kratky* für das fördernde Interesse an unseren Untersuchungen zu Dank verpflichtet.