

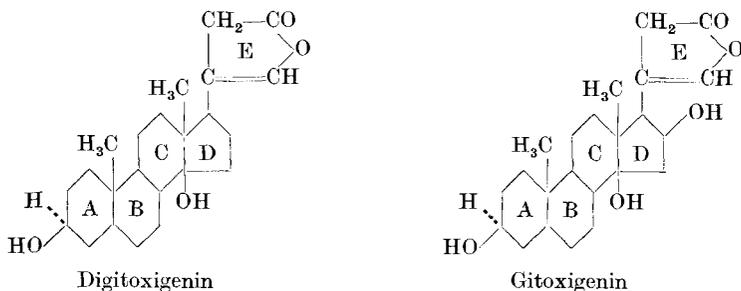
81. Weitere Farbreaktionen von Sterinen in ihrer Beziehung zu konstitutiven Faktoren

von G. Woker und I. Antener.

(31. III. 39.)

In vorausgegangenen Arbeiten¹⁾ haben wir uns mit der Furfurol-Schwefelsäurereaktion einer Anzahl von Sterinkörpern verschiedener Gruppen befasst und auch die beim Unterschichten ihrer Lösungen mit konz. Schwefelsäure allein auftretende Farbreaktion untersucht. Den bisher geprüften Sterinkörpern, die grösstenteils als Vitamine, Provitamine und Hormone in das Getriebe physiologischen Geschehens eingreifen und in den meisten Fällen nach ihrer Herkunft und ihrem Angriffsort organspezifischen Charakter tragen²⁾, reiht sich zwanglos eine weitere Gruppe von Sterinen an. Zum Unterschied von den meisten der bisher erwähnten einschlägigen Körper ist diese Gruppe pflanzlichen Ursprungs, in ihren Wirkungen jedoch spezifisch auf die Herztätigkeit eingestellt. Von diesen aus der *Digitalis* gewonnenen typischen Herzgiften wurden uns, durch die *Chemische Fabrik Hoffmann-La Roche* in Basel, als Repräsentanten: Digitoxigenin und Gitoxigenin freundlich zur Verfügung gestellt, wofür wir unseren besten Dank aussprechen.

Wie die im folgenden wiedergegebenen Formeln für die genannten Herzgifte erkennen lassen, stehen diese, infolge des gesättigten Charakters der Ringe A bis D und der Stellung des Hydroxyls in Ring A, der Androsteron- und Gallensäuregruppe nahe, in bezug auf die stereochemische Stellung des erwähnten Hydroxyls, besonders dem Iso-androsteron³⁾.

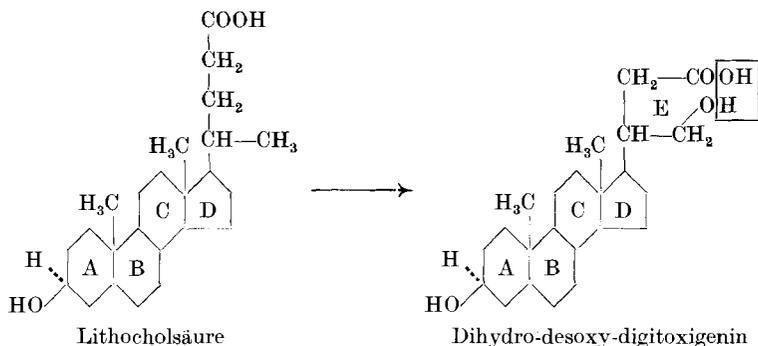


¹⁾ Helv. **20**, 732 (1937); **21**, 1345 (1938); **22**, 47 (1939) und in diesem Heft.

²⁾ Der organspezifische Charakter scheint auch der Mehrzahl der nicht physiologisch aktiven Sterine eigentümlich zu sein.

³⁾ Vgl. die beiden vorangegangenen Arbeiten, l. c. vorletzte Fussnote.

Von der Lithocholsäure führt theoretisch der Weg zu den genannten, um einen heterocyclischen 5-Ring (E) reicheren toxischen Sterinen, durch Verkürzung der langen Seitenkette um ein CH₂, Übergang des am Nachbarkohlenstoffatom von Ring D inserierten CH₃ in die uns schon in der vorausgegangenen Arbeit, beim Desoxycorticosteron, begegneten CH₂-OH-Gruppe und Anhydrierung zu einer Verbindung, die sich vom Digitoxigenin und Gitoxigenin nur durch den Mehrgehalt von zwei Wasserstoffatomen in Ring E und dem Mindergehalt von einem bzw. zwei Hydroxylen in Ring D unterscheidet:



Die sehr charakteristischen und damit für die Differenzierung der beiden Substanzen und die Analyse von Gemischen dieser Art, geeigneten Farbreaktionen, die mit den Lösungen der genannten Digitalissterine + Furfurol und konz. Schwefelsäure bzw. mit konz. Schwefelsäure allein, erhalten werden, sind im folgenden näher beschrieben. Zur Untersuchung gelangt bei beiden Substanzen eine 0,25-proz. alkoholische Lösung.

1) Reaktionen des Digitoxigenin.

- a) mit Furfurol + konz. Schwefelsäure.
- b) mit konz. Schwefelsäure allein.

ad a: 1') 0,05 cm³ 1-proz. alkoholische Furfurollösung + 1 cm³ Alkohol + 1 cm³ Digitoxigeninlösung, unterschichtet mit konz. Schwefelsäure:

Es treten übereinandergelagert auf: ein schmaler, grüngelber, schwach fluoreszierender und ein schmaler, orangefarbener Ring, die beide der Schwefelsäurereaktion allein zugehören dürften.

Für die Furfurol-Digitoxigenin-Schwefelsäurereaktion charakteristisch ist dagegen die ungefähr zur Hälfte dunkelviolettfarbige Kontaktfläche. Die andere Hälfte wird von einer lilafarbenen Schlieren eingenommen. Die stereochemische Verwandtschaft mit dem Iso-androsteron¹⁾ zeigt sich also hier in dem analogen, eigentümlich schlierigen, mit den Lösungsverhältnissen des Farbstoffes in konz. Schwefelsäure (eventl. auch mit

¹⁾ Siehe unsere vorausgegangene Arbeit.

seiner Dispersitätsänderung) wahrscheinlich zusammenhängenden Aussehen der Kontaktfläche.

1'') 0,1 cm³ 1-proz. alkoholische Furfurollösung + 1 cm³ Digitoxigeninlösung + konz. Schwefelsäure.

Das Verhalten ist ähnlich wie bei 1'. Doch erscheint die Kontaktfläche homogen dunkelviolet, etwas bläulich.

1''') 0,15 cm³ der alkoholischen Furfurollösung + 1 cm³ Alkohol + 1 cm³ Digitoxigeninlösung + konz. Schwefelsäure.

Weitere Vertiefung der dunkelvioletten Färbung der Kontaktfläche, im übrigen gleich wie 1''.

Nach ca. zwei Stunden hat sich die mit 0,1 cm³ Furfurollösung ausgeführte Reaktion noch verstärkt. Im untern Teil des Reagensglases ist die Flüssigkeit rosafarben gefärbt. Darüber hat sich ein, im untern Teil violetter, im obern blauer Doppelring entwickelt.

ad b: Nach Unterschichten des Gemisches von 1 cm³ Alkohol + 1 cm³ der Digitoxigeninlösung mit konz. Schwefelsäure erscheint die Flüssigkeit im untersten Teil des Reagensglases hellgelb gefärbt. Darüber entwickelt sich ein orangefarbener, zuoberst ein olive bis grasgrüner Ring mit ziemlich starker, grüner Fluoreszenz.

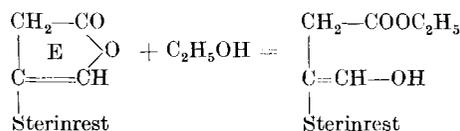
2) Reaktionen des Gitoxigenin.

a) mit Furfurol + konz. Schwefelsäure.

b) mit konz. Schwefelsäure allein.

ad a: Die Reaktion wird mit den nämlichen drei Furfurolkonzentrationen und in derselben Weise wie beim Digitoxigenin angestellt. Nach Unterschichtung des Gemisches der betreffenden Furfurolmenge (1-proz. alkoholische Lösung) + je 1 cm³ Alkohol und je 1 cm³ der 0,25-proz. alkoholischen Gitoxigeninlösung mit konz. Schwefelsäure zeigen alle drei furfurolhaltigen Proben einen kirschrot bis zinnberroten, der Schwefelsäurereaktion allein zugehörigen Ring. Darüber befindet sich ein schwarzer Ring, der im obern Teil einen olive Ton erkennen lässt. Mit der Furfurolkonzentration nimmt der schwarz bis olivefarbene Teil des Doppelringes, welcher der Furfurol-Gitoxigeninreaktion entspricht, an Breite zu. Auch lässt die mit der geringsten Furfurolmenge ausgeführte Probe eine entsprechende Verstärkung beim Stehen erkennen¹⁾.

ad b: 1 cm³ Alkohol + 1 cm³ Gitoxigeninlösung werden mit konz. Schwefelsäure unterschichtet. Dabei entsteht sofort ein leuchtend kirschroter, darunter ein orange bis hellroter Ring, der beim Stehen an Breite und Intensität zunimmt. Darunter bildet sich allmählich eine verwaschen rosa erscheinende Zone und darüber ein schmaler grüngelber Ring aus. Ob der letztere einer in Spuren vorhandenen Beimengung zukommt, die sich daher erst allmählich im Reaktionsbild durchzusetzen vermag, oder ob hierfür eine Zersetzung des Gitoxigenins verantwortlich zu machen ist, muss der weiteren Untersuchung vorbehalten bleiben. Auf alle Fälle legt die Konstitution des Ringes E die Annahme seiner Hydrolyse oder, unter den gegebenen Bedingungen, seiner Alkohololyse nahe, entsprechend folgender Reaktion:



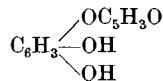
¹⁾ Die kirschrote Zone zeigt ebenfalls eine Farbverstärkung beim Stehen, wobei sich auch die unter derselben befindliche Flüssigkeit rosa verfärbt.

Das durch eine derartige Reaktion bedingte Verschwinden des Ringes E würde das Auftreten eines, dem Umsetzungsprodukt zukommenden, neuen Farbenringes, bei der Unterschichtung mit konz. Schwefelsäure, hinreichend motivieren.

Bei allen in dieser Hinsicht in Frage kommenden Substanzen haben sich bei den Reaktionen mit Furfurol und konz. Schwefelsäure sowie mit Schwefelsäure allein, seitenkettenständige und vor allem kernständige Hydroxylgruppen für Art und Intensität der erhaltenen Farbenreaktion als sehr wesentlich erwiesen. Auch bei den im vorigen auf ihr Verhalten gegenüber Furfurol + konz. Schwefelsäure und gegenüber konz. Schwefelsäure allein geprüften Sterinkörpern zeigt sich die Bedeutung der Hydroxylgruppe für den Ausfall der Farbenreaktionen beim Vergleich der betreffenden, mit Digitoxigenin und mit Gitoxigenin erhaltenen, Färbungen. Dieselben unterscheiden sich sehr stark voneinander, obschon das Gitoxigenin vom Digitoxigenin chemisch nur durch den Mehrgehalt einer Hydroxylgruppe (in Ring D) differiert.

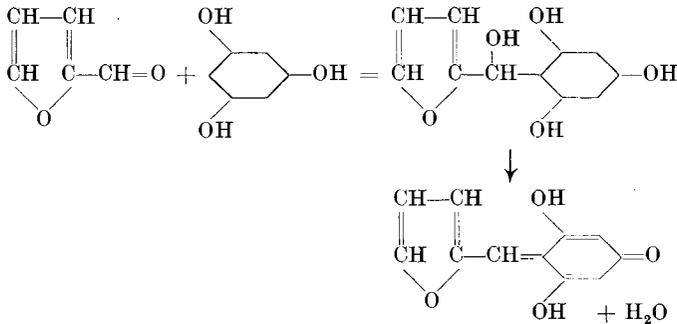
Es ist von vornherein anzunehmen, dass nicht nur die Zahl der Hydroxylgruppen und — gerade im Gebiet der Sterinkörper — ihre Verteilung auf die verschiedenen Kerne, für den Ausfall der Farbenreaktionen in Frage kommt, sondern auch die gegenseitige Stellung von Hydroxylen am selben Kern. Da im Gebiet der Sterine noch zu wenig Substanzen Aufschluss über den fraglichen Einfluss solcher Hydroxylisomerien zu geben vermögen, haben wir das Verhalten einer Anzahl einfacher Phenole, bei den erwähnten Farbreaktionen, zum Vergleich herangezogen. Schon die wenigen, im folgenden nebeneinandergestellten Farbreaktionen, lassen die erwartete Bedeutung dieser Stellungsisomerie erkennen. Sie dürfte in ihrer Einfachheit, besser als bei komplizierten Ringsystemen, von der Art der Sterinkörper, geeignet sein, auf das Wesen der Kondensationsreaktionen mit Furfurol einiges Licht zu werfen. Aus Analogiegründen möchte man geneigt sein, diese den zu Triphenylmethanfarbstoffen, Phtaleinen und verwandten Körpern führenden Kondensationen von Benzaldehyd oder Phtalsäure-anhydrid mit Phenolen an die Seite zu stellen.

Unter Berücksichtigung des Tatsächlichen in der herrschenden Auffassung, wie es der Berechnung bei Pentose- und Pentosanbestimmungen, z. B. nach der Phloroglucinmethode von *Tollens* zu Grunde gelegt wird, — (wobei man das Kondensationsprodukt als Phloroglucid von der Formel



betrachtet¹⁾), — wäre dann bei einer Kondensation nach dem Triphenylmethan- oder Phtaleintyp wohl anzunehmen, dass diese auf halbem Wege stehen bleibt, indem sich das Zwischenprodukt der Kondensation des Furfurols (mit einer Phenolmolekel) direkt zum Farbstoff stabilisiert, entsprechend der Reaktionsfolge:

¹⁾ Siehe *Jäger* und *Unger*, B. **35**, 4440 (1902); **36**, 1222 (1903).



Für die Berechnung, bei den erwähnten quantitativen Bestimmungen, kommt es auf dasselbe heraus, ob dem Kondensationsprodukt des Furfurols die der üblichen Auffassung entsprechende Formel eines Phloroglucids oder die hier zur Diskussion gestellte, dem Farbstoffcharakter besser entsprechende, chinoide Farbstoffformel zugeschrieben wird¹⁾ und dasselbe wäre natürlich auch bei den übrigen Furfurol-Phenolkondensationsprodukten der Fall.

Was die Farbreaktionen der letzteren, unter den von uns gewählten Bedingungen, betrifft, so zeigt eine wässrige Pyrogallol-lösung + Furfurol, mit konz. Schwefelsäure unterschichtet, in verdünnter Lösung und bei Verwendung von 1 Tropfen des 1-proz. alkoholischen Furfurols, eine orangerote, in konzentrierterer Lösung + 3 Tropfen der Furfurollösung einen, im untern Teil braunorange gefärbten, im oberen grau violetten, nach 6 Stunden violettschwarz gewordenen Doppelring, während hier wir bei den meisten andern Phenolen²⁾ die Reaktion mit konz. Schwefelsäure allein ein negatives Resultat ergibt.

Eine alkoholische Phloroglucinlösung zeigt, bei der nämlichen Arbeitsweise, in verdünnterer Lösung und bei Anwendung von 1 Tropfen des Furfurolreagens, bei der Unterschichtung mit konz. Schwefelsäure, sofort einen orange und darüber schwarz bis dunkelgrün gefärbten Doppelring. In konzentrierterer Lösung und mit 2 Tropfen Furfurol reicht die schwarze Zone schon nach einer Stunde bis zur Flüssigkeitsoberfläche, und nach 6 Stunden haben sich die folgenden Färbungen entwickelt: Unten im Reagensglas ist die Flüssigkeit gelbgrün³⁾; hierauf folgt die orangegefärbte, darüber eine braunrote und zuoberst die schwarze Zone.

Noch ausgesprochener sind die Unterschiede bei den drei Diphenolen: Brenzcatechin, Resorcin und Hydrochinon. Brenzcatechin gibt, in wässriger Lösung, mit 1 Tropfen des 1-proz. Furfurolreagens,

¹⁾ In beiden Fällen besitzt das Kondensationsprodukt die Bruttoformel $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_4$.

²⁾ Von den von uns in dieser Hinsicht geprüften Phenolen gibt nur (nach einigem Stehen) Phloroglucin einen schwach gelbgrünen, Resorcin einen ganz schwach grau-violetten Ring und Adrenalin (sofort) im untern Teil der Flüssigkeit eine sehr schwache Gelbfärbung.

³⁾ Wahrscheinlich von der Reaktion mit Schwefelsäure allein herrührend.

beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure, einen im untern Teil salmfarbenen, im obern violetten Doppelring. Nach 6 Stunden ist die Flüssigkeit unten rosarila, darüber schmutzigviolett verfärbt.

Beim Unterschichten wässriger, mit 1 Tropfen Furfurol versetzter Resorcinlösungen mit konz. Schwefelsäure entsteht ein orange bis braunorange, darüber trüb graublau gefärbter Doppelring. Der obere Teil kann der Resorcin-Schwefelsäurereaktion allein zukommen¹⁾.

Im Gegensatz zu diesen intensiven Reaktionen steht die praktisch als negativ zu betrachtende des Hydrochinons²⁾.

Die p-ständige Substitution vermag also die Farbenreaktion zu verhindern, was im Sinne der im vorigen dargelegten Auffassung des Kondensationsproduktes als p-chinoidem Farbstoff zu erwarten ist, während eine Wasserabspaltung, unter Beteiligung des einen Hydroxyls, entsprechend der für das Phloroglucin dargelegten traditionellen Auffassung (Phloroglucidbildung) auch bei p-ständiger Substitution vor sich gehen müsste.

Auch in anderen Fällen von p-ständiger Substitution kann die Verhinderung der Kondensationsreaktion mit dem Furfurol beobachtet werden. Von den von uns untersuchten Polyphenolderivaten: dem Adrenalin, bei dem die Seitenkette p-ständig zu dem einen, m-ständig zu dem andern der beiden benachbarten Hydroxyle steht, und der Gerbsäure mit p-ständiger Substitution zur mittleren der drei benachbarten Hydroxylgruppen, wird im ersteren Fall — (bei der Schwefelsäureunterschichtung der mit 2 Tropfen Furfurol versetzten Lösung des Adrenalins in einem Gemisch von 70-proz. Alkohol und Äther) — nur eine ganz schwache Gelbfärbung der Flüssigkeit, im unteren Teil des Reagensglases und darüber eine sehr geringe blassgräuliche, wohl der Furfurol-Schwefelsäurereaktion allein entsprechende Zone erhalten.

Wässrige konz. Gerbsäurelösungen, mit ca. 3 Tropfen Furfurolösung versetzt und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet, ergeben ebenfalls, auch nach 1-stündigem Stehen, ausser der erwähnten, unbedeutenden Furfurolschwefelsäurereaktion und einer weissen Fällung in der Kontaktschicht, nur eine schwach gelbliche Zone.

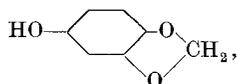
Wie weit jedoch dieses Verhalten bei p-substituierten Phenolen verallgemeinert werden darf, entzieht sich bei der geringen Zahl der von uns geprüften Fälle, der Beurteilung. Sicher ist nur, dass sich, wenn die p-Stellung zum Hydroxyl besetzt ist, kein p-chinoides Kondensationsprodukt bilden kann. Es bleibt dann aber eventuell immer noch die Möglichkeit eines Eintritts in o-Stellung, mit nachfolgender Bildung eines orthochinoid gebauten Farbstoffs³⁾.

Der Übergang von Polyphenolen, deren Konstitution eine Farbenreaktion mit Furfurol + konz. Schwefelsäure zulässt, zum Mono-

¹⁾ Siehe die vorletzte Fussnote.

²⁾ Ein erst nach einigem Stehen auftretender, unten gelblich, oben grauila gefärbter, ganz schwacher Ring dürfte der Reaktion der Schwefelsäure mit Furfurol, — von dessen alkoholischer Lösung wir 2 Tropfen verwendet haben, — zuzuschreiben sein.

³⁾ Dies könnte z. B. der Fall sein beim p-substituierten Sesamol



das nach *Kreis* (vgl. Ch. Z. **23**, 802 (1899); **26**, 897, 1014 (1902); **27**, 516, 1030 (1903); **28**, 956 (1904); Vortrag, gehalten in der naturforschenden Ges. Basel, 11. März 1903.) Träger der ja auch zu den Furfurolreaktionen gehörenden *Baudouin'schen* Reaktion (für den Nachweis eines Margarinezusatzes zur Butter) ist.

phenol ist, analog wie bei den Sterinkörpern, von einer Abschwächung der betreffenden Farbreaktion begleitet. Diese dokumentiert sich, an einer mit 2 Tropfen Furfurol versetzten wässrigen Phenollösung, beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure, in einem sofort auftretenden gelben Ring. Der darüber, nach ca. $\frac{1}{4}$ Stunde auftretende, lila Ring dürfte der schwachen Farbreaktion des Furfurols mit Schwefelsäure allein zukommen. Dass eine freie Hydroxylgruppe nicht unbedingt für die Kondensationsreaktion mit Furfurol und konz. Schwefelsäure vorhanden sein muss, wie dies erforderlich wäre, wenn die Kondensation im Sinne der beim Phloroglucin gemeinhin angenommenen Phloroglucidbildung — bzw. der entsprechenden Reaktion mit andern Phenolen vor sich ginge — zeigt der Vergleich der Phenol- mit der Anisolreaktion. Die letztere weist nicht nur keine Verhinderung oder Abschwächung, sondern im Gegenteil, gegenüber der Reaktion mit freiem Phenol, eine Verstärkung auf¹⁾. In einem Gemisch von Wasser, Alkohol und Äther gelöst, ergibt Anisol, mit 2 Tropfen der Furfurolösung und konz. Schwefelsäure, sofort einen stark orangegefärbten Ring, über dem nach ca. 10 Minuten ein violettlich gefärbter erscheint, welcher letzterer auch hier vielleicht auf das Konto des Furfurols allein gesetzt werden könnte, vielleicht aber auch einer weitergehenden Kondensation mit einer zweiten Anisolekel seine Entstehung verdankt, entsprechend der im vorigen diskutierten Möglichkeit²⁾.

Bei der grossen Bedeutung, die den Furfurolreaktionen für die Untersuchung zahlreicher Stoffe zukommt, wäre ein eingehendes Studium der vielen einschlägigen, noch ungelösten Fragen verlockend. Die vorliegende Arbeit vermag leider nur einen sehr bescheidenen Beitrag zur Kenntnis dieses weitverzweigten Gebietes zu stellen.

Laboratorium für physikalisch-chemische Biologie
der Universität Bern.

¹⁾ Dieses Resultat ist aus dem Grund unerwartet, weil die Reaktion, infolge des verätherten Hydroxyls, nicht bis zum chinoiden Farbstoff gehen kann, sondern sich auf die erste, gewissermassen als Aldolbildung zu betrachtende Kondensationsphase beschränken muss, wenn nicht in diesem und ähnlichen Fällen eine weitergehende Kondensation mit einer zweiten Phenol- (bzw. hier der Anisol-)molekel stattfindet, unter Bildung eines Kondensationsproduktes, das sich vom entsprechenden Triphenylmethanfarbstoff, der mit Benzaldehyd erhalten wird, nur durch den Ersatz des Benzolkerns durch den Furanrest unterscheidet.

²⁾ Siehe die vorige Fussnote.
