

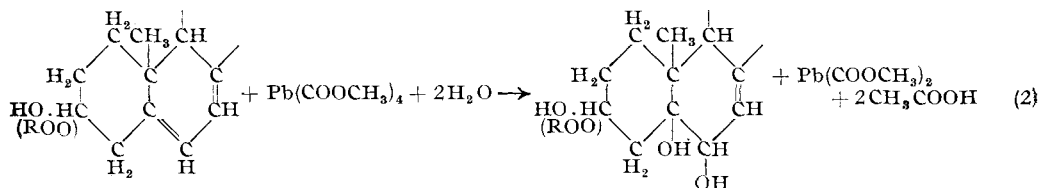
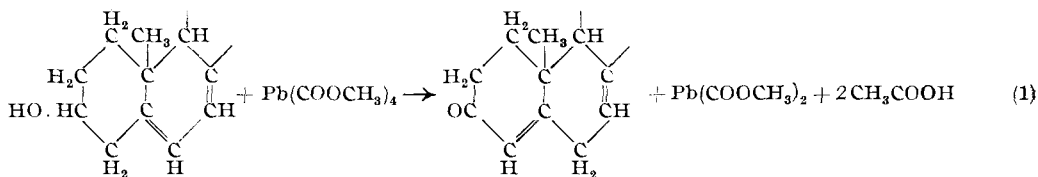
192. A. Frh. v. Christiani und V. Anger: Über einen empfindlichen Nachweis von Ergosterin und über eine Unterscheidung von Ergosterin und Ergosterinester.

[Aus d. Institut für medizin. Kolloidchemie d. Universität Wien.]

(Eingegangen am 26. April 1939.)

Die bisher bekannten Reaktionen auf Ergosterin sind teils unspezifisch, das heißt andere Sterine, vornehmlich Cholesterin, reagieren gleichfalls (Liebermann-Reaktion), teils sind sie wenig empfindlich. Selbst mit der besten unter ihnen, Reaktion nach Rosenheim¹⁾, lassen sich nur 100 γ deutlich nachweisen. Da diese Rosenheimsche Reaktion (Lösen in 90-proz. Trichloressigsäure) bei Sterinen mit OH-Gruppen, benachbart zur Doppelbindung, weit intensiver ausfällt, als bei Ergosterin, ist die Möglichkeit zu einem empfindlichen Nachweis des Ergosterins dadurch gegeben, daß man das Ergosterin in eine solche Verbindung überführt. Dies läßt sich durch Behandeln des Ergosterins mit Bleitetracetat bewerkstelligen, wobei höchstwahrscheinlich das intensiv mit Trichloressigsäure reagierende Ergostadienatriol entsteht.

Bei der Durchführung der Versuche zeigte sich ein merkwürdiges Verhalten des Ergosterins, denn wenn dessen Oxydation mit Bleitetracetat durchgeführt wurde, trat bei nachfolgendem Zusatz der Trichloressigsäure die erwartete Rotfärbung nicht oder sehr schwach ein, dagegen erschien eine intensiv grüne Fluoreszenz. Eine derartige Reaktion mit Trichloressigsäure ist unseres Wissens für kein Sterin beschrieben worden. Wir beobachteten jedoch eine solche Reaktion beim Ergostatrienon-(3)²⁾. Möglicherweise wird also das Ergosterin in Chloroformlösung von Bleitetracetat zu diesem Keton oxydiert (Gl. 1), während die Oxydation in 90-proz. Trichloressigsäure (also bei Anwesenheit von Wasser) zum Ergostadienatriol führt (Gl. 2).



Für diese Annahme spricht der Umstand, daß Ergosterinester unter denselben Bedingungen die Rotfärbung des Ergostadienatriols zeigen und nicht die grüne Fluoreszenz des freien Ergosterins. Dies ermöglicht eine Unterscheidungsreaktion zwischen Ergosterin und Ergosterinester. Analog dem Ergosterin verhalten sich das 7-Dehydro-cholesterin und vermutlich auch andere 7-Dehydro-sterine, die wir uns leider nicht beschaffen konnten.

¹⁾ Biochem. Journ. **23**, 47 [1928].

²⁾ R. V. Oppenauer, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **56**, 137 [1937].

Die Empfindlichkeit der Reaktion wurde soweit erhöht, daß 1—2 γ Ergosterin bzw. 7-Dehydro-cholesterin deutlich nachgewiesen werden können (bei Mikroausführung der Reaktion auf der Tüpfelplatte sogar 0.1 γ Ergosterin). Cholesterin reagiert selbst nicht und setzt die Empfindlichkeit der Reaktion nicht merklich herab. Es lassen sich daher Spuren Ergosterin im Cholesterin nachweisen.

Bei der Ausführung der Reaktion ist zu beachten, daß Reihenfolge des Zusatzes und Konzentration der Lösungen unbedingt eingehalten werden müssen.

Beschreibung der Versuche.

A) Farbreaktion.

Ausführung: Die auf Ergosterin zu prüfende Probe wird in einem Reagensglas in einigen Tropfen Chloroform gelöst, 1 ccm Trichloressigsäure zugesetzt und mit einem Tropfen Bleitetraacetatlösung versetzt. Bei Anwesenheit von Ergosterin tritt eine bald verblassende rosa-violette Färbung auf.

Lösungen: 1) Trichloressigsäure (90 g Säure + 10 g Wasser).

2) 0.5-proz. Lösung von Bleitetraacetat in Eisessig.

Erfassungsgrenzen: Ergosterin 2 γ
 7-Dehydro-cholesterin 1 γ
 Ergosterylacetat 1 γ
 Ergosterylbutyrat 1 γ
 Ergostadienriol 0.5 γ
 (Beim Ergostadienriol tritt die Färbung schon vor Zusatz des Bleitetraacetats auf.)

B) Unterscheidung von Ergosterin und Ergosterinestern.

Ausführung: Etwa 100 γ des zu prüfenden Sterins werden in einem Reagensglas in 1 ccm Chloroform gelöst, ein Tropfen 5-proz. Lösung von Bleitetraacetat in Eisessig zugesetzt und nach wenigen Sek. 1 ccm Trichloressigsäurelösung zugefügt. Grüne Fluoreszenz zeigt Anwesenheit von freiem Ergosterin an, bald verblassende violett-rosa Färbung Anwesenheit von Ergosterinestern.

Lösungen: 1) Trichloressigsäure (90 g Säure + 10 g Wasser)

2) 5-proz. Lösung von Bleitetraacetat in Eisessig.

C) Ausführung der Mikroreaktion auf der Tüpfelplatte.

Ein Stäubchen der Probe (oder ein Tropfen einer Lösung in Chloroform) wird auf der Tüpfelplatte in einem Tropfen Chloroform gelöst und mit einem Tropfen der Reagenslösung vermischt.

Bei Anwesenheit von Ergosterin, 7-Dehydro-cholesterin oder deren Ester tritt Rosafärbung auf.

Reagens: 1 ccm 90 Gew.-proz. Trichloressigsäure wird mit 2 Tropfen 5-proz. Lösung von Bleitetraacetat in Eisessig versetzt. (Das Gemisch muß frisch bereitet werden, da es nur etwa 1 Stde. wirksam bleibt.)

Erfassungsgrenze: Ergosterin 0.1 γ .