

POSSÍVEIS INTERMEDIÁRIOS NUMA REACÇÃO DE COR DO ERGOSTEROL E DO 7-DE-HIDRO-COLESTEROL

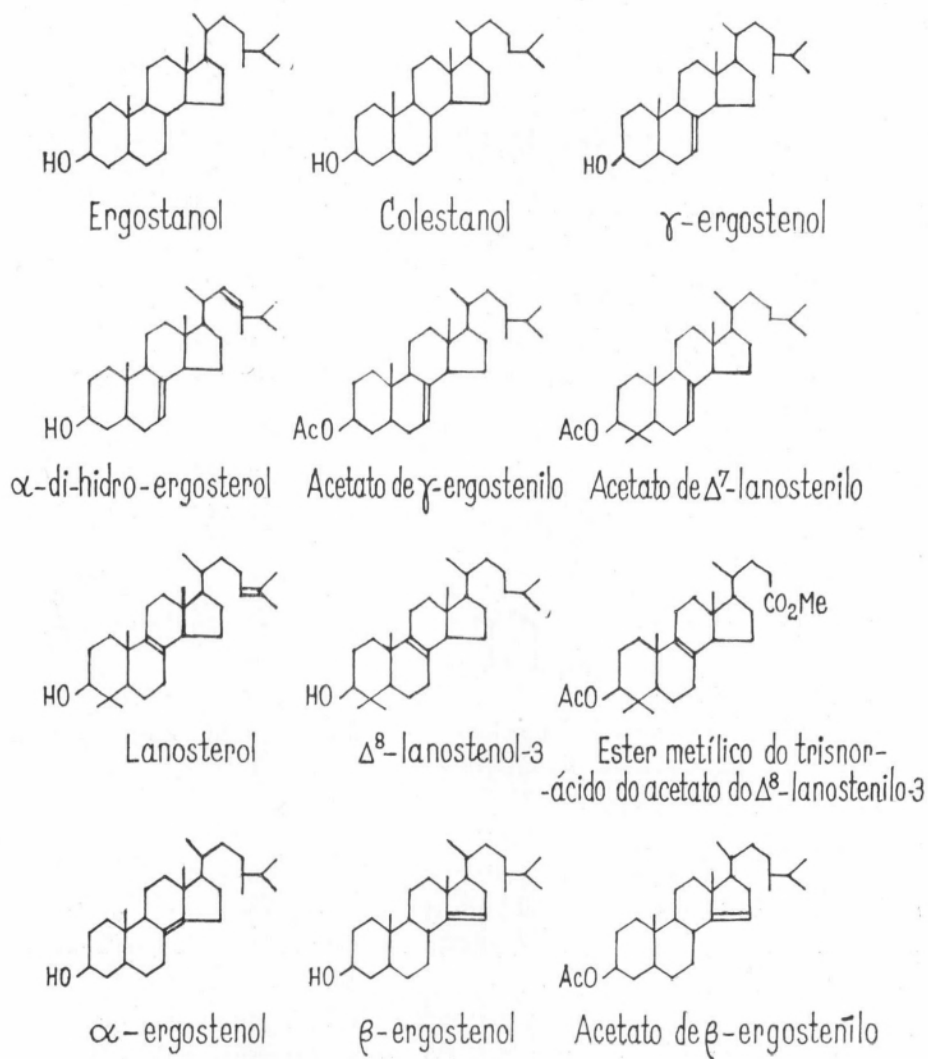
ALFREDO P. GOUVEIA, MARIA HELENA R. FONSECA
e A. J. A. de GOUVEIA

*Centro de Estudos de Química e Agrupamento Científico de Estudos Ultramarinos,
Laboratório Químico da Universidade de Coimbra — Portugal*

Estabelecemos, anteriormente, (1), que o ergosterol e o 7-de-hidro-colesterol, em dicloreto de etileno, ou solventes similares, por acção prévia de reagentes de adição à ligação etilénica — tais como o iodo, ácido perbenzoico, tetranitrometano, etc. — seguida de adição duma solução concentrada de tricloreto de antimónio, dá origem a uma cor rósea, intensa, λ_{\max} 520 m μ , $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 640$. Fundamentados na especificidade da reacção, na estabilidade da cor e na elevada intensidade da bem definida banda de absorção, fixámos as condições de aplicação desta reacção, a determinações quantitativas das provitaminas D.

Neste trabalho, de que apresentámos uma comunicação ao XXIV Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências (Madrid, 1958), consideramos a natureza desta reacção, *via* ácido perbenzoico ou iodo.

Esta reacção é altamente específica do sistema insaturado, conjugado, endocíclico, do ergosterol, do 7-de-hidro-colesterol e doutros esteróis, com a mesma insaturação. Com o fim de verificar esta especificidade e de obter indicações precisas do mecanismo desta reacção, por identificação de possíveis intermediários, fizemos um estudo exaustivo do comportamento dum grande número de esteroides, com grupos funcionais e insaturação de vários tipos, usando os tratamentos com ácido perbenzoico e iodo (1).

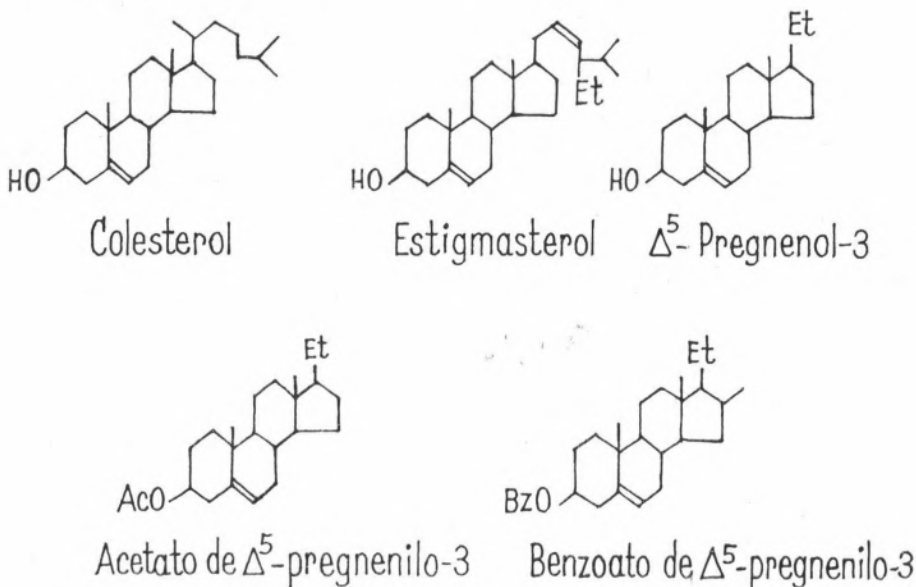


QUADRO 1.º

Parte dos esteroides foram preparados e purificados no laboratório pelos métodos indicados na literatura (2), outra parte foi-nos amavelmente cedida pelos professores T. Reichstein e D. H. R. Barton, a quem apresentamos os nossos melhores agradecimentos.

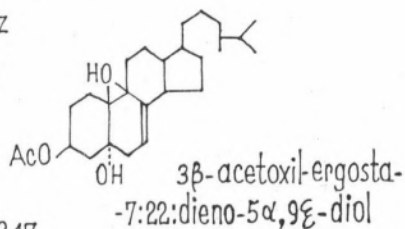
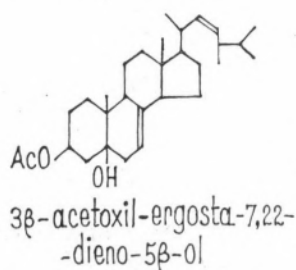
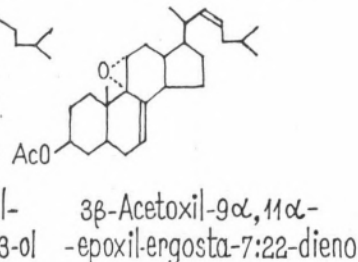
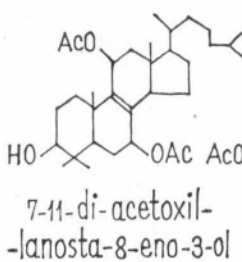
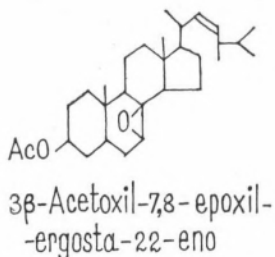
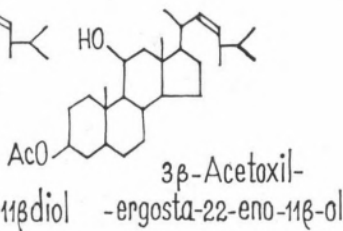
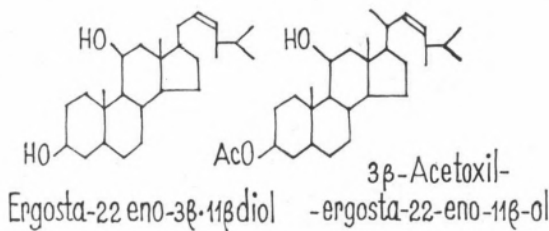
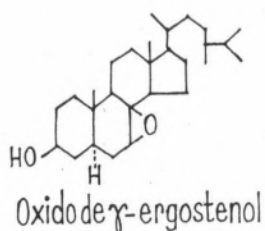
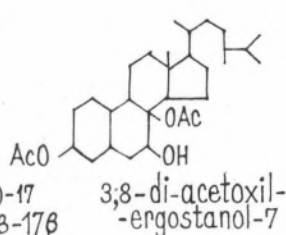
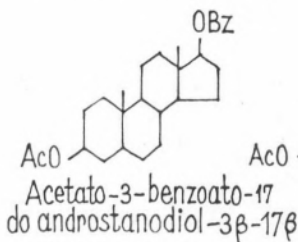
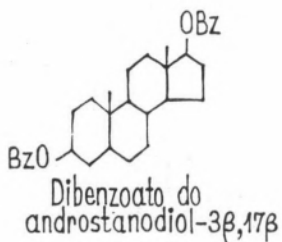
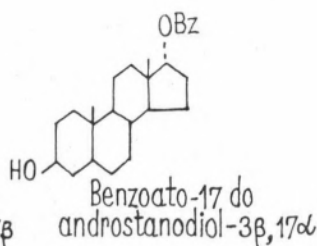
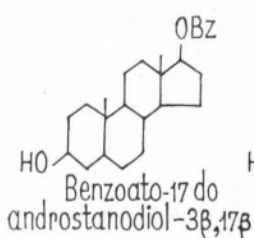
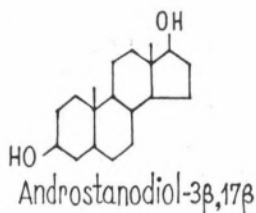
*
* *

Esteróis saturados (ergostanol, colestanol) e esteróis com uma ligação etilénica, endocíclica, ou exocíclica, separada do grupo hidroxilo, na posição 3, pelo menos, por três átomos de carbono (γ , α e β -ergosterol, α -di-hidro-ergosterol, lanosterol e respectivos acetatos e benzoatos) (Quadro 1.º) dão ensaios negativos. O colesterol (1 e 2 por cento), o estigmasterol e outros esteróis, com insaturação na posição 5, 6, (Quadro 2.º) também não dão cor, durante 10 minutos.



QUADRO 2.º

A presença de dois ou mais grupos hidroxilos (ou dos respectivos acetatos ou benzoatos), ou de epóxido, em sistemas saturados, ou mesmo em compostos insaturados que não afectem, simultaneamente, as posições 5, 6, 7 e 8, dão ensaio negativo (Quadro 3.º). Esteroides,



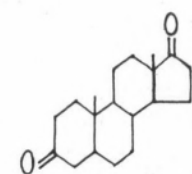
QUADRO 3.º

com grupos cetónicos, em sistemas saturados, ou com insaturações isoladas (Quadro 4.^o); cetonas insaturadas α , β , como o importante grupo de hormonas (Quadro 5.^o) (testosterona, progesterona, cortisona e 17-hidroxil-corticosterona); dicetonas insaturadas, conjugadas, com as insaturações estendidas aos anéis *B* e *C* (Quadro 5.^o); todos estes compostos dão também ensaio negativo. Não dão cor os homólogos do per-hidro-1,2-ciclopenteno-fenantreno (colestano, copostrano, alopregnano), ou os hidrocarbonetos com uma ligação dupla (Δ^1 - colesteno, Δ^2 - colesteno, 3-etileno-colestano), ou alguns derivados halogenados (5 α -cloro-colestano, 5 β , 6 α -dibromo-colestano, cloreto de colesteroil), e ainda *seco*-derivados, como o ácido 2,3-*seco*-colestanol-dicarboxílico, (Quadro 6.^o).

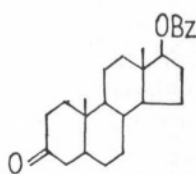
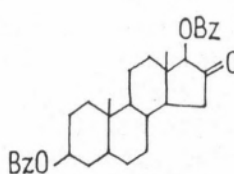
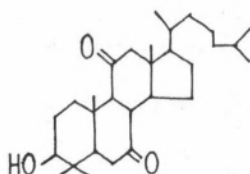
Assim, os esteroides saturados, com grupos hidroxílicos ou cetónicos, os esteroides com uma ou mais ligações etilénicas isoladas, endo ou exocíclicas, não conjugadas com carbinois, os esteroides cetónicos, insaturados α , β , ou dicetónicos insaturados, ou ainda os hidrocarbonetos relacionados ou os seus derivados halogenados, não dão a reacção de cor.

Aparece cor quando os compostos apresentam insaturação conjugada, entre átomos de carbono, mas a distribuição de duas ou três ligações duplas conjugadas, em dois anéis, dá em geral uma cor fraca, amarela, com o máximo principal de absorção entre 400 e 450 m μ . A vitamina D₂, com um sistema triénico, resultante da ruptura do anel *B*, dá cor amarela com o máximo de absorção principal em 450 m μ (Quadro 7.^o). Insaturação nos anéis *B* e *C*, conjuntamente, com o grupo de peróxido, dá origem a cores vermelhas (peróxido de de-hidro-ergosterol e respectivo acetato) (Quadro 8.^o). Só os compostos apresentados no Quadro 9.^o deram origem à cor rósea, com máximo em 520 m μ . O ergosterol, ou o acetato, ou o eter metílico, e o 7-de-hidro-colesterol, por tratamento prévio com ácido perbenzoico, ou por tratamento simultâneo com iodo e solução concentrada de tricloreto de antimónio; os dois peróxidos e o cerevisterol dão reacção imediata com a solução concentrada de tricloreto de antimónio, sem ser necessário o tratamento com ácido perbenzoico ou iodo, (Quadro 9.^o).

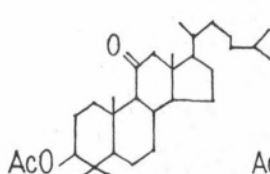
Parece que a reacção de cor do ergosterol, e derivados, e do 7-de-hidro-colesterol, com o ácido perbenzoico, deverá ter lugar por intermédio dum composto com estrutura semelhante à do cerevisterol ou do peróxido de ergosterol. A formação deste intermediário é indicada pela necessidade da actuação, durante um certo tempo, do ácido perbenzoico sobre as soluções das provitaminas D. O produto de reacção não é removido por bases fortes; e, como não é reduzido pelo tiosulfato ou iodeto, há indicações que deverá ser um derivado hidroxílico e não um peróxido. Por destruição do complexo com álcool e separação da parte orgânica, o produto obtido mostrou



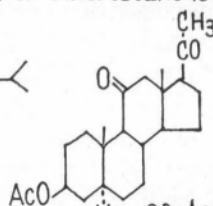
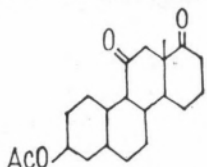
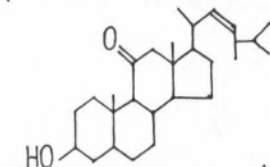
Androstanodiona-3.17

Benzoato de
Androstano-3-ona-17β-olDi-benzoato de
Androstano-16-ona-3β-17β-diol

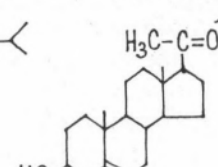
Lanosta-7.11-diona-3-ol



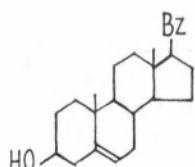
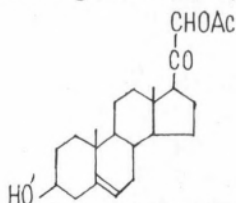
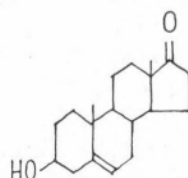
3β-acetoxil-lanostona-11

3β-Acetoxil-11,20-
di-oxo-alo-pregnano3β-Acetoxil-11:17 α-
dioxo-D-homo-androstano

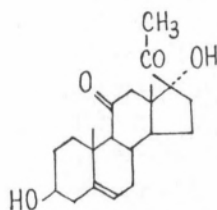
11-Oxo-ergosta-22-eno-3β-ol



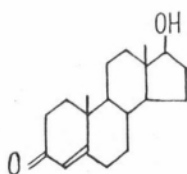
Pregnenolona

Androsta-5-eno-3β-ol
-17β benzoílo21-Acetoxil-androsta-
5-eno-3β-ol-20 ona

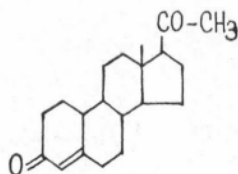
Di-hidro-epi-androstenone



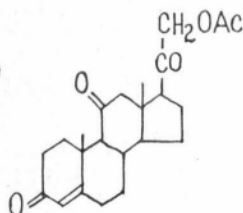
3β-17α-di-hidroxi-5-pregneno-11,20-diona



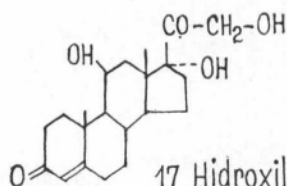
Testosterona



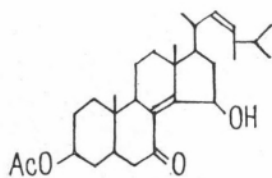
Progesterona



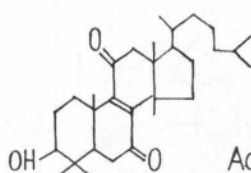
Acetato de cortisona



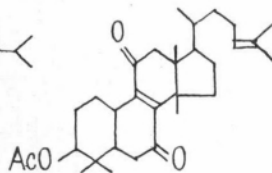
17 Hidroxil-corticosterona



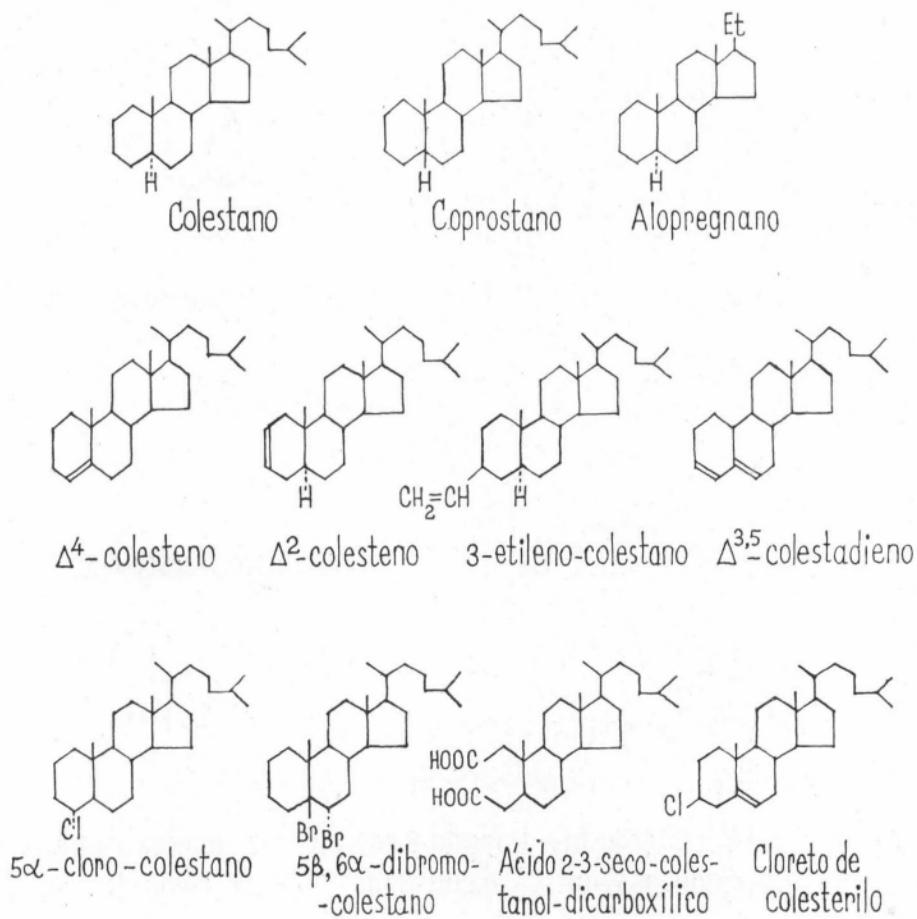
3 β -acetoxil-7-oxo-ergosta-
-8(14),22-dieno-15 ϵ -ol



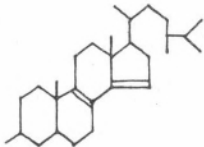
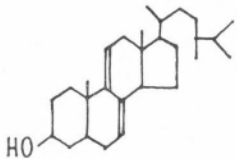
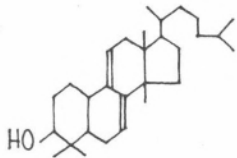
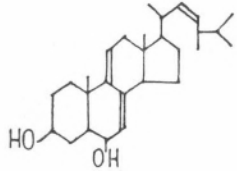
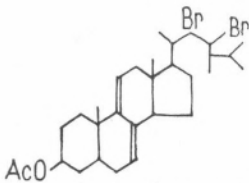
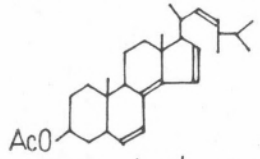
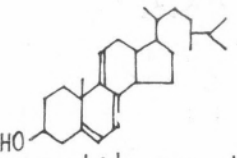
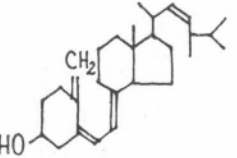
Lanosta-8-eno-7,11
-diona-3-ol

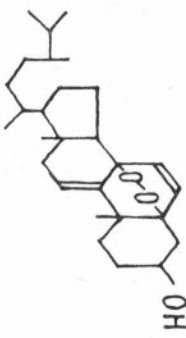
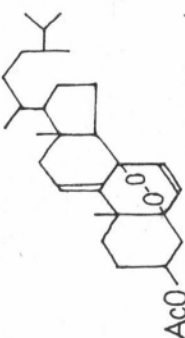


3-acetoxil-lanosta-
-8-24-dieno-7,11-diona



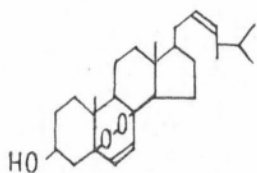
QUADRO 6.º

	Iodo	Ácido perbenzoico
 De-hidro-ergosterol	Amarelo ↓ Castanho amarelado	Amarelo
 Ergosterol-D	λ_{\max} 440m μ	Amarelo
 Di-hidro-agnosterol	Amarelo fraco	Amarelo fraco
 Ergosta-9,11,22-trieno-3,6-diol	Amarelo fraco	Amarelo fraco
 3 β -Acetoil-22-23-dibromo- ergosta-7,9(11)-dieno	Amarelo	Negativo
 3 β -Acetoil-ergosta- -6,8(14),15,22-tetraeno	Amarelo	Amarelo
 De-hidro-ergosterol	Amarelo	λ_{\max} 560m μ
 Vitamina D ₂	λ_{\max} 440m μ	

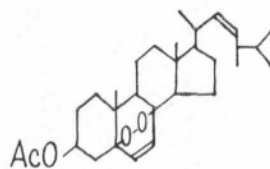
	Sem iodo ou ácido perbenzoico	Iodo	Ácido perbenzoico
<div> Peróxido de dehidro-ergosterol</div>	λ max $E_{1cm}^{1\%}$ 520m μ	620 m μ 126	530 m μ 126
<div> Acetato do peróxido de dehidro-ergosterol</div>	λ max $E_{1cm}^{1\%}$ 520m μ	620 m μ 114	530 m μ 114

QUADRO 8.º

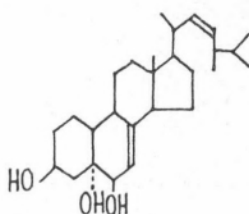
Sem iodo ou ácido perbenzoico



Peróxido de ergosterol
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$

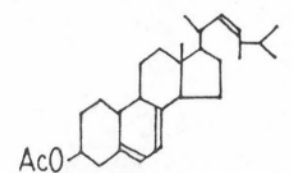


Peroxido de acetato de ergosterilo
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$

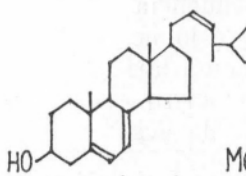


Cerevisterol
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$

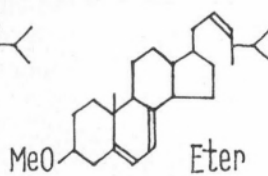
Com iodo ou ácido perbenzoico



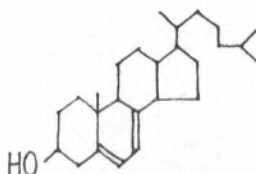
Acetato de ergosterilo
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$



Ergosterol
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$



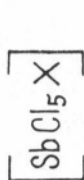
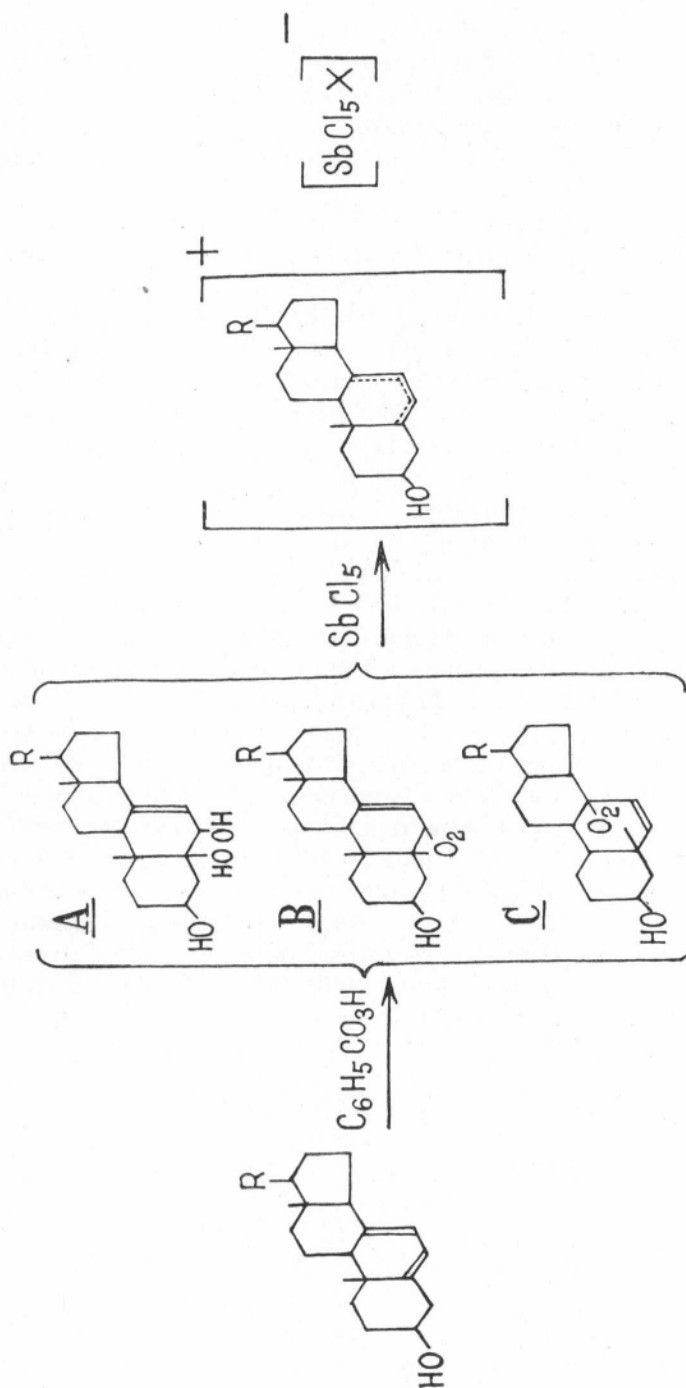
Eter
metil-ergosterílico
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$



7-De-hidro-colesterol
 $\lambda_{\max} = 520 \text{ m}\mu$

um espectro ultravioleta muito semelhante ao do cerevisterol (λ_{max} 225-230 m μ), completamente diferente do dos peróxidos de ergosterol (λ_{max} 320 m μ). Por uma operação semelhante sobre o complexo obtido com iodo, verificou-se que desapareceu toda a absorção característica do ergosterol, apresentando-se só um máximo forte em 225-230 m μ .

As estruturas dos complexos, obtidos com iodo e com ácido perbenzoico, devem ser muito semelhantes, pois apresentam a mesma cor, com espectros de absorção praticamente sobreponíveis. Os produtos de destruição destes complexos com álcool são também análogos, visto a parte orgânica, em ambos os casos, dar espectros de absorção com as mesmas características. Contudo, a maneira de formação destes complexos apresenta diferenças nos dois casos; com o ácido perbenzoico, a reacção é intensificada por um certo tempo de acção do reagente sobre as provitaminas, parecendo, segundo os nossos resultados experimentais, com formação dum composto hidroxilado do tipo do cerevisterol, *A*, ou de peróxidos, *B* ou *C* (Quadro 10.^o); pelo contrário, se a acção do iodo for mantida, durante algum tempo, antes da adição da solução concentrada de tricloreto de antimónio, os resultados são cada vez mais baixos, não havendo formação apreciável de complexo se fizermos actuar o iodo durante cerca de 30 minutos. Considerando o papel do iodo no mecanismo de formação do complexo, somos levados a supor a formação dum complexo de transferência de carga, como intermediário, visto que a adição definitiva do iodo à insaturação prejudica a sequência da reacção; o complexo de transferência de carga, com o iodo negativamente carregado, pela acção do pentacloreto de antimónio, daria origem à formação do complexo corado — carbonião mesomérico e anião com o metal electrofílico. O cerevisterol, o peróxido de ergosterol ou o intermediário, obtido pela acção do ácido perbenzoico, daria um complexo análogo, em que se verifica também a equimolecularidade da provitamina D e do pentacloreto de antimónio.



SUMMARY

Concerning the mechanism of provitamin D colour reaction with perbenzoic acid and a concentrated solution of antimony trichloride, it was found that ergosterol peroxide, or its acetate, or cerevisiterol, gave the same colour without previous treatment with perbenzoic acid. These or a similar substance should be intermediate on the colour reaction with provitamins D.

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. J. A. de Gouveia, Alfredo P. Gouveia e Maria Helena R. Fonseca, — *XV Congresso. União Internacional de Química Pura e Aplicada*, Lisboa 1956, VI, 13, 177; Garcia de Orta, 5, 253 (1957); *Revista Portuguesa de Química*, 1, 15 (1958).
- [2] *Elsevier's Encyclopaedia of Organic Chemistry*, 14 (1940); 14 (Supplement) Part 1 (1954), Part 2 (1956).

