**ÜBER DAS SCHICKSAL DER REDUKTODEHYDRO-
CHOLSÄURE IM MEERSCHWEINCHENORGANISMUS
UND DIE UMWANDLUNG DER CHOLSÄURE
IM MEERSCHWEINCHENLEBERBREI.**

Von

TAKASI SASAKI.

(Aus dem biochemischen Institut Okayama Vorstand:
Prof. Dr. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 27. Juni 1940)

Durch die vorausgegangene Mitteilung (Sasaki 1940) wurde festgestellt, dass Dehydrocholsäure im Tierorganismus (Meerschweinchen (Sasaki 1940), Kaninchen (Kim, 1938)) in Desoxycholsäure umgewandelt werden konnte. Andererseits hat C. H. Kim (1939) vor kurzem die interessante Beobachtung gemacht, dass Cholsäure, die dem Meerschweinchenorganismus verabreicht wurde, in der Galle und im Harn als Desoxycholsäure ausgeschieden wurde. Dabei wurde die Reduktodehydrocholsäure, α -3-Oxy-7,12-diketocholansäure als Zwischenstoffwechselprodukt zwischen Cholsäure und Desoxycholsäure bzw. Chenodesoxycholsäure angenommen.

Somit möchte ich hier das Schicksal der Reduktodehydrocholsäure im Meerschweinchenorganismus verfolgen. Bereits K. Kyogoku (1937) hat dieselbe Oxyketogallensäure dem Krötenorganismus verabreicht und im Harn ihre epimere Form, β -3-Oxy-7,12-diketocholansäure, nachgewiesen.

20 g Reduktodehydrocholsäure wurden als Natriumsalz 32 Meerschweinchen intraperitoneal einverleibt; aus der Galle (31 Gallenblasen) wurden 0,4 g Glykocholeinsäure vom Schmelzpunkt 185°C erhalten. Damit wurde erwiesen, dass die Reduktodehydrocholsäure im Meerschweinchenorganismus in Desoxycholsäure und dann in ihre gepaarte Säure umgewandelt werden konnte, wie bereits C. H. Kim (1939) bei seinem Versuch angenommen hat.

Der Umstand, dass die Desoxycholsäure entweder als freie

Säure oder als gepaarte Säure je nach der Verabreichung der Dehydrocholsäure oder Reduktodehydrocholsäure in der Galle ausgeschieden wurde, kann jetzt noch nicht erklärt werden; weitere Erforschung ist noch erforderlich.

Aus 1,5 Liter angesammeltem Harn wurden 0,1 g Dehydrocholsäureäthylester wider Erwarten als neutrale Fraktion gewonnen, aber weder eine andere kristallisierte Gallensäure noch Desoxycholsäure daraus gewonnen. Diese Triketogallensäure stammt ohne Zweifel von der verabreichten Reduktodehydrocholsäure her; somit muss neben dem bereits nachgewiesenen Reduktionsvorgang der Ketogallensäure im Tierorganismus (Yamasaki u. Kyogoku 1935, Kyogoku 1939) ein gallensäureoxydierender Prozess im Meerschweinchenorganismus vor sich gehen.

Im Tierorganismus ist unter den Organen die Leber natürlich als ein mit dem Gallensäurestoffwechsel am engsten zusammenhängendes Organ angenommen worden. Somit wurde hier die Oxydierbarkeit der Cholsäure im Leberbrei des Meerschweinchens nachgeprüft und gefunden, dass die Cholsäure wohl in der Leber in Dehydrocholsäure oxydiert gefunden wurde, während ein derartiger Oxydationsvorgang beim Kontrollversuch mit Rinderleberbrei kaum nachgewiesen wurde.

Vor kurzem hat H. Tsaka (1940) gefunden, dass Ursodesoxycholsäure im Gewebsbrei des Menschen- oder geimpften Rattenkrebses in ihre Diketo- bzw. Oxyketocholansäure oxydiert wurde. Dieses Ergebnis legt die Annahme nahe, dass die Cholsäure im Tierorganismus, insbesondere in der Leber, in Reduktodehydrocholsäure bzw. Dehydrocholsäure oxydiert und weiter in die anderen sauerstoffärmeren Gallensäuren reduziert werden kann, wie bereits Prof. Shimizu (1938) behauptet hat. Die Intensität des Oxydationsvorganges muss aber je nach der Art der Tierspezies bzw. des Organs beträchtlich verschieden sein.

VERSUCHSTEIL.

I. Tierversuch mit Reduktodehydrocholsäure.

Den 400–500 g wiegenden Meerschweinchen, die mit Okara und

ein wenig Gemüse gefüttert worden waren, wurden 10-20 ccm einer 2%igen Reduktodehydrocholatlösung pro kg Körpergewicht täglich einmal oder einen Tag um den anderen intraperitoneal einverleibt.

Die verabreichte Gallensäure betrug insgesamt 20 g und der angesammelte Harn 1,5 Liter; die herausgeholtte Gallenblase 31.

a. Untersuchung des Harns.

Der zu Syrup eingeeengte Harn wurde mit absolutem Alkohol mehrmals extrahiert, der Alkoholauszug eingeeengt und dann unter Ansäuerung mit verdünnter Salzsäure mit Petroläther geschüttelt. Die Alkoholschicht wurde mit Krystallsoda neutralisiert und auf dem Wasserbad abgedampft, um Alkohol und Petroläther zu entfernen.

Dann wurde die wässrige Lösung unter Ansäuerung mit verdünnter Salzsäure erschöpfend ausgeäthert. Der Ätherauszug wurde mit verdünnter Ammoniaklösung extrahiert. Die Ätherschicht wurde dann eingeeengt, wobei eine Krystallisation auftrat. Die abgesaugten Krystalle schmolzen bei 218°C und wurden aus verdünntem Alkohol mehrmals umkrystallisiert. Nadeln vom Schmelzpunkt 218-219°C. Keine Schmelzpunktdepression mit reinem Dehydrocholsäureäthylester. Ausbeute 0,1 g. Liebermann-Reaktion nur gelb.

3,200, 3,380 mg Subst.: 8,485, 8,950 mg CO₂, 2,605, 2,660 mg H₂O.

C₂₀H₃₀O₅ Ber. C 72,51 H 8,90

Gef. „ 72,32, 72,22 „ 9,11, 8,81.

Die freie Säure schmolz bei 235°C, keine Schmelzpunktdepression mit reiner Dehydrocholsäure.

Aus dem Ammoniakauszug wurde kein Ergebnis erhalten.

b. Untersuchung der Galle.

Die von Mucin befreite, getrocknete Galle (4,7 g) wurde in verdünntem Alkohol gelöst, unter Ansäuerung mit verdünnter Salzsäure mit Petroläther mehrmals geschüttelt, mit Soda neutralisiert und dann der Petroläther und Alkohol abgedampft. Die wässrige Lösung wurde unter Ansäuerung mit Salzsäure ausgeäthert. Der Ätherauszug wurde nach Waschen mit Wasser

eingengt. Der dabei ausgeschiedene Krystall (0,3 g) wurde aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Prismatische Nadeln vom Schmelzpunkt 185°C. Keine Schmelzpunktdepression mit reiner Glykcholeinsäure.

Aus der anderen Fraktion wurden 0,2 g der gepaarten Säure erhalten. Die Ausbeute betrug insgesamt 0,5 g.

3,370, 3,450 mg Subst.:	8,285, 8,510 mg CO ₂ ,	2,980, 2,970 mg H ₂ O.
5,235, 4,355 mg Subst.:	0,167, 0,137 ccm N	(C ₂₂ H ₃₅ O ₅ N) ₂ C ₁₇ H ₃₁ O ₂ .
Ber. C 67,34	H 9,91	N 2,86
Gef. „ 67,05	„ 9,89	„ 3,58
„ 67,27	„ 9,63	„ 3,53.

Die hydrolysierte Gallensäure wurde aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert und schmolz bei 183°C. Keine Schmelzpunktdepression mit reiner Margarincholeinsäure.

2,245 mg Subst.:	6,045 mg CO ₂ ,	2,095 mg H ₂ O.
(C ₂₁ H ₃₀ O ₄) ₂ C ₁₇ H ₃₁ O ₂	Ber. C 73,63	H 10,28
	Gef. „ 73,44	„ 10,44.

II. Oxydation der Cholsäure durch Leberschnitt.

a. Meerschweinchenleber u. Cholsäure.

65,2 g aseptisch herausgenommene, frische Meerschweinchenleber wurde mit der Schere zerkleinert, zusammen mit 625 ccm Phosphatpuffer (PH 7,4), mit 375 ccm Rockescher Lösung und mit 100 ccm einer 5%igen Cholatlösung (5 g Cholsäure) in den sterilisierten Kolben hineingetan, unter Zusatz von wenig Chloroform und Toluol bei 37°C 43 Tage lang im Brutschrank aufbewahrt und dazwischen täglich einige Male gut geschüttelt. Das schwach alkalisch reagierende Reaktionsgut wurde auf dem Wasserbade abgedampft und dann mit absolutem Alkohol erschöpfend extrahiert. Der Alkoholextrakt wurde unter Ansäuerung mit verdünnter Salzsäure mit Petroläther geschüttelt, mit Krystallsoda neutralisiert, auf dem Wasserbad von Lösungsmitteln befreit und dann mit verdünnter Salzsäure ausgefällt. Die gut getrocknete Fällung wurde mit Essigäther digeriert und abgesaugt.

Der Rückstand wurde aus Alkohol einige Male umkrystallisiert

und als Cholsäure identifiziert (Krystallform, Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt). Ausbeute 2,1 g.

3,585, 3,520 mg	Subst.:	9,305, 9,094 mg	CO ₂ ,	3,145, 3,090 mg	H ₂ O.
C ₂₇ H ₄₆ O ₅	Ber.	C 70,53	H 9,81		
	Gef.	„ 70,79	„ 9,82		
		„ 70,46	„ 9,82.		

Aus dem Essigätherfiltrat wurde weiter 0,5 g Cholsäure erhalten. Das so erhaltene Filtrat wurde bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die dabei ausgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt und schmolzen bei 225–235°C. Rohe Ausbeute 50 mg. Sie wurden in 3 ccm absolutem Alkohol unter Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure auf dem Wasserbade einige Stunden gekocht. Der so erhaltene Äthylester wurde aus Alkohol mehrmals umkrystallisiert. Schmelzpunkt 220–222°C. Keine Schmelzpunktdepression mit reinem Äthylester der Dehydrocholsäure.

3,790, 3,390 mg	Subst.:	10,080, 9,025 mg	CO ₂ ,	3,000, 2,675 mg	H ₂ O.
C ₂₉ H ₄₈ O ₅	Ber.	C 72,51	H 8,90		
	Gef.	„ 72,54	„ 8,86		
		„ 72,61	„ 8,83.		

Die aus dem Ester wiedergewonnene Säure schmolz mit reiner Dehydrocholsäure bei 237°C.

b. Rinderleber und Cholsäure.

Mit 70 g frischer Leber wurden 5 g Cholsäure, genau wie vorher, in Phosphatmischung im Brutschrank 47 Tage lang aufbewahrt.

Die hierbei wiedergewonnene Cholsäure betrug insgesamt 3,8 g.

4,095, 4,235 mg	Subst.:	10,620, 10,932 mg	CO ₂ ,	3,515, 3,695 mg	H ₂ O.
C ₂₇ H ₄₆ O ₅	Ber.	C 70,53	H 9,81		
	Gef.	„ 70,73	„ 9,60		
		„ 70,40	„ 9,76.		

Dabei wurde aber keine andere Gallensäure erhalten.

LITERATUR.

- Isaka, H. (1940): J. of Bioch. im Druck.
Kim, C. H. (1938): Z. physiol. Chem., 255, 267.
Kim, C. H. (1939): Ebenda, 261, 97.
Kyogoku, K. (1937): Ebenda 250, 253.
Kyogoku, K. (1937): Ebenda, 246, 99.
Sasaki, T. (1940): J. of Bioch., 32, 87.
Shimizu, T. (1938): Vorträge in der „Japanese Association for the advancement of Science“ in Tokyo im Mai.
Yamasaki, K. u. Kyogoku, K. (1935): Z. physiol. Chem., 233, 29; 235, 43.