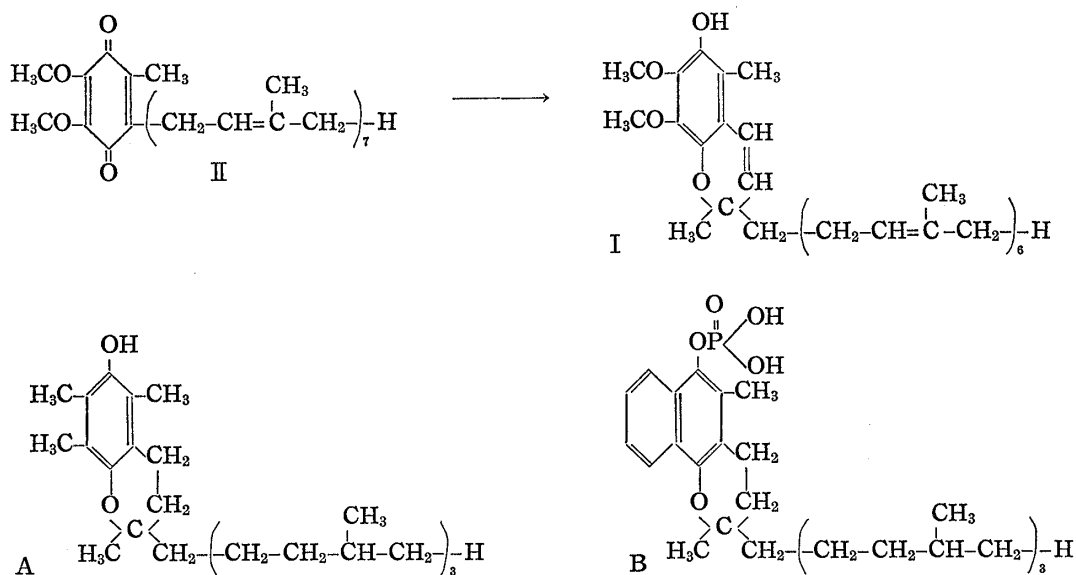


149. Hiroshi Morimoto, Isuke Imada, und Hotsue Nishida : Ubichinone
und Verwandte Substanzen. VIII.*¹ Biologisches
Verhalten des Ubichromenols (35) in Ratten.

(Forschungslaboratorien für Chemie, Takeda Chemische Industrien A. G.*²)

Ubichromenol bzw. Ubichromanol ist, da es eine α -Tocopherol (A) ähnliche Struktur hat, oft biologisch untersucht worden.¹⁾ Darunter findet man einige interessanten Arbeiten. Laidman und Morton hatten 1 mg Ubichromenol (50) in Ratten sc. injiziert, nach 48 Stdn. aber nur 20% davon in der injizierten Gegend und keine Bildung des Ubichinons (50) nachgewiesen, in Hinsicht darauf, daß Ubichinon \rightleftharpoons Ubichromenol sich an der oxydativen Phosphorylierung in Zellen beteiligen könnte.²⁾ Die genannte Arbeit erregte jedoch die Aufmerksamkeit der Autoren und schien ihnen der kritischen Nachprüfung wert zu sein, da, um dieses Problem ausführlich zu untersuchen, das injizierte Ubichromenol (50) zu wenig war.



*¹ Zugleich X. Mitteilung in der Reihe "Über die Bestandteile der Hefe." K. Mitt. : Dieses Bulletin, 13, 1160 (1965).

*² Juso-Nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka (森本 浩, 今田伊助, 西田秀枝).

- 1) L. Mervyn, R. A. Morton : *Biochem. J.*, 72, 106 (1959); A. T. Diplock, E. E. Edwin, J. Green, J. Bunyan, S. Marcinkiewicz : *Nature*, 186, 554 (1960); J. Green, E. E. Edwin, A. T. Diplock, J. Bunyan : *Biochem. Biophys. Research Commun.*, 2, 388 (1960); J. N. Thompson, G. A. J. Pitt, R. A. Morton : *Biochim. Biophys. Acta*, 45, 396 (1960); A. T. Diplock, J. Green, E. E. Edwin, J. Bunyan : *Biochem. J.*, 76, 563 (1960); B. C. Johnson, Q. Crider, C. H. Shunk, B. O. Linn, E. L. Wong, K. Folkers : *Biochem. Biophys. Research Commun.*, 5, 309 (1961); A. C. Page, Jr., M. C. Smith, P. H. Gale, D. Polin, K. Folkers : *Ibid.*, 6, 141 (1961); E. E. Edwin, A. T. Diplock, J. Bunyan, J. Green : *Biochem. J.*, 79, 91, 105, 108 (1961); E. Søndergaard, M. L. Scott, H. Dam : *J. Nutrition*, 78, 15 (1962); J. S. Dinning, C. D. Fitch, C. H. Shunk, K. Folkers : *J. Am. Chem. Soc.*, 84, 2007 (1962); E. E. Edwin, J. Bunyan, J. Green, A. T. Diplock : *Brit. J. Nutrition*, 16, 135 (1962); V. C. Joshi, J. Jayaraman, T. Ramasarma : *Biochem. J.*, 88, 25 (1963); A. C. Page, Jr., M. C. Smith, P. H. Gale, D. Polin, K. Folkers : *Arch. Biochem. Biophys.*, 101, 204 (1963); J. L. Smith, H. N. Bhagavan, R. B. Hill, S. Gaetani, P. B. R. Rao, Q. E. Crider, B. C. Johnson, C. H. Shunk, A. F. Wagner, K. Folkers : *Ibid.*, 101, 388 (1963); J. S. Dinning, A. S. Majaj, S. A. Azzam, W. J. Darby, C. H. Shunk, K. Folkers : *Am. J. Clin. Nutrition*, 13, 169 (1963).
- 2) D. L. Laidman, R. A. Morton : *Biochem. J.*, 83, 32 p (1962).

Deshalb stellten sich die Autoren die Aufgabe, dieses Problem aufzuklären, indem eine relative größere Menge des Ubichromenols (35) (I) in Ratten rund 1.5 Monate sc. injiziert und sein Verhalten in verschiedenen Organen (Leber, Plasma, Blutkörperchen sowie Gehirn) untersucht wurde. Zum Glück war I den Autoren relativ leicht zugänglich³⁾ und sogar für dieses Ziel besonders günstig, weil wenn sich Ubichinon (35) (II) bei oxydativer Phosphorylierung daraus bildet, II von dem in Ratten wesentlich vorliegenden Ubichinon (45) mit einer Analyse⁴⁾ unterschieden werden kann.

Material und Methoden

Herstellung von Ubichromenol (35) (I)—Das I wurde von dem II, das aus *Candida utilis* isoliert war, durch eine Umsetzung mit Triäthylamin dargestellt.

Versuchstiere und Behandlung—Männliche SD-Ratten (4 Wochen Alter) wurden täglich und mit I, wie in Tabelle I, sc. injiziert. Das Futter bestand aus gemahlenden Rattenkeksen (Wasser : 4.23%, Eiweis : 31.94%, Fett : 5.43%, Asche : 10.77%) und Leitungswasser *ad libitum*.

TABELLE I.

Tier Gruppe	Zahl	Mittleres Körpergewicht (g)		Behandlung (Tägl. sc. injiziert)	Versuchszeit (Tag)	Gesamt- Dosis (mg/Tier)
		Beginn	Ende			
A	5	87.2	260.6	0.25 ml/100 g von 5%iger HCO (50) ^{a)} physiologischer Kochsalzlösung	37	0
D	5	87.2	268.8		41	0
B	5	87.2	249.0	(I) 20 mg/kg als 0.25 ml/100 g von (I) 0.8%iger Lösung in 5%iger HCO (50) physiologischer Kochsalzlösung	37	118.0
E	5	87.2	243.8		41	125.4
C	5	87.2	234.0	(I) 50 mg/kg als 0.25 ml/100 g von (I) 2%iger Lösung in 5%iger HCO (50) physiologischer Kochsalzlösung	37	275.4
F	4	87.2	259.5		41	326.3

a) HCO(50)=Polyoxyäthylenäther des hydrierten Rizinusöls.

Extrakt des Lipides aus tierischen Organen—Die Rattenorgane einer Gruppe wurden zerkleinert. Davon wurden 5 g in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator mit 30 ml auf -20° gekühltem Aceton-Äthanol (1:1) homogenisiert, dann in einer Servall-Angle-Zentrifuge (Type SS-1) zentrifugiert. Die Extraktion wurde noch zweimal in gleicher Weise wiederholt. Die Gesamtüberstände ergaben nach dem Eindampfen zur Trockne unter Lichtabschluß einen Lipidteil.

Quantitative Bestimmung von I im Lipidteil—Der Lipidteil wurde einer in vorliegender Mitteilung geschilderten Analyse⁴⁾ an I unterworfen. Die erhaltenen Ergebnisse sind in den Tabellen II~IV zusammengefaßt.

Ergebnisse und Diskussion

Bei injizierten Gruppen wurde in Leber, Plasma und Blutkörperchen jedenfalls I nachgewiesen. Aus Tabelle II geht hervor, daß I in Lebern der C bzw. F Gruppen (50 mg pro Kg) bedeutend höher ist als in Lebern der B bzw. E Gruppen (20 mg pro Kg). Ein Unterschied war so erkennbar, jedoch im Plasma und in den Blutkörperchen keine Unterschiede zu beobachten (Tabelle III). Und in allen Fällen wurde keine Substanz II nachgewiesen. Ferner wurden in den Kontrollen (A und D Gruppen) wurde sowohl I als auch II nicht erkannt, jedoch eine Substanz gefunden, welche bei Dünnschichtchromatographie mit I ähnliche Färbung (FeCl_3 - $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Reaktion positiv)

3) I. Imada, H. Morimoto : Dieses Bulletin, 12, 1047 (1964).

4) H. Morimoto, I. Imada : *Ibid.*, 13, 1160 (1965).

TABELLE II. Quantitative Bestimmung von I in Leber

Tier		Gesamt-Leber (g)	Lipidteil (mg/5 g Leber)	Extinktion ^{a)} bei 332 m μ	I		Wiedergef. Prozent von I (%)
Gruppe	Zahl				(γ /g Leber)	(mg/Gesamt-Leber)	
A	5	60.7	258	0.033			
B	5	57.2	255	0.165 (0.132) ^{b)}	323.3	18.5	3.1
C	5	53.0	274	0.275 (0.242)	592.7	31.4	2.3
D	5	58.5	277	0.029			
E	5	55.5	262	0.173 (0.144)	352.7	19.6	3.1
F	4	47.0	294	0.319 (0.290)	710.2	33.4	2.6

a) Lipidteile aus 5 g Leber wurden in CHCl₃ auf 2 ml gelöst. 0.1 ml der CHCl₃-Lösung wurde auf einer Kieselgel G-Platte dünn-schichtchromatographisch getrennt und der I entsprechende Anteil mit 3 ml EtOH extrahiert. Der Umrechnung wird ein $E_{1\%}^{1\text{cm}}=49$ zugrunde gelegt.

b) Klammer bedeutet der gegen eine Blindprobe gemessene Extinktion-Wert.

TABELLE III. Quantitative Bestimmung von I in Plasma und Blutkörperchen (Nach Zusatz des Heparins dann 3~4 stündigem Stehenlassen wurden Plasma und Blutkörperchen abgetrennt.)

Plasma

Tier		Gesamt-Plasma (ml)	Lipidteil (mg)	Extinktion ^{a)} bei 332 m μ	I		Wiedergef. Prozent von I (%)
Gruppe	Zahl				(γ /1 ml Plasma)	(γ /Gesamt-Plasma)	
D	5	10	20	0.026			
E	4	9	20	0.060 (0.034)	57.8	520.2	0.10
F	4	9	19	0.054 (0.028)	47.6	428.4	0.03

a) Lipidteile wurden in CHCl₃ auf 0.5 ml gelöst. 0.2 ml der CHCl₃-Lösung wurde wie bei Tabelle II ausgearbeitet.

Blutkörperchen

Tier		Gesamt-Blutkörperchen (ml)	Lipidteil (mg)	Extinktion ^{a)} bei 332 m μ	I		Wiedergef. Prozent von I (%)
Gruppe	Zahl				(γ /1 ml Blutkörperchen)	(γ /Gesamt-Blutkörperchen)	
D	5	19	96	0			
E	4	11	58	0.021	45.9	504.5	0.10
F	4	14	52	0.021	45.9	642.6	0.05

a) Lipidteile wurden in CHCl₃ auf 0.5 ml gelöst. 0.1 ml der CHCl₃-Lösung wurde wie bei Tabelle II ausgearbeitet.

TABELLE IV. FeCl₃-K₃Fe(CN)₆-Farbreaktion Positive Substanz im Gehirn

Tier		Gesamt-Gehirn (g)	Lipidteil des halben Gesamt-Gehirn (mg)	Extinktion ^{a)} bei 332 m μ
Gruppe	Zahl			
D	5	7.2	252	0.010
E	4	6.7	244	0.013
F	4	6.7	235	0.009

a) Lipidteile wurden in CHCl₃ auf 2 ml gelöst. 0.1 ml der CHCl₃-Lösung wurde wie bei Tabelle II ausgearbeitet.

und einen ähnlichen Rf-Wert zeigt. Aber diese Substanz zeigt ein UV-Maximum bei 270 m μ und unterschied sich von I (Abb. 1). Diese Substanz war in den Blutkörperchen so viel vorhanden, daß eine qualitative spektrophotometrische Analyse an I damit unterbrochen wurde. Im Gehirn konnten die Autoren mit dieser Methode keine Substanz 1 nachweisen (Tabelle V).

In neuester Zeit wurde von einigen Forschern vermutet,⁵⁾ daß Ubichromanolphosphat an der oxydativen Phosphorylierung in Zellen teilnehmen könnte und Vitamin K₁-chromanolphosphat (B) wurden dabei als ein Donator der aktivierten Phosphorylgruppe an *Mycobacterium phlei* festgestellt.

Die Autoren haben die Absicht, dieses Gebiet weiter zu untersuchen.

Die Autoren möchten in diesem Institute Herren Dr. K. Tanaka, Abteilungsleiter, für seine Unterstützung dieser Arbeit, Dr. H. Yokotani, für Überlassung der tierischen Organe, und R. Negishi für seine technische Mithilfe hier herzlichst danken.

Zusammenfassung

Ubichromenol (35) (I) wurde in Ratten sc. injiziert und in der Leber, im Plasma, in den Blutkörperchen sowie im Gehirn quantitativ analysiert. In Lebern, Plasma, und Blutkörperchen ließ sich I, jedoch im Gehirn nicht nachweisen.

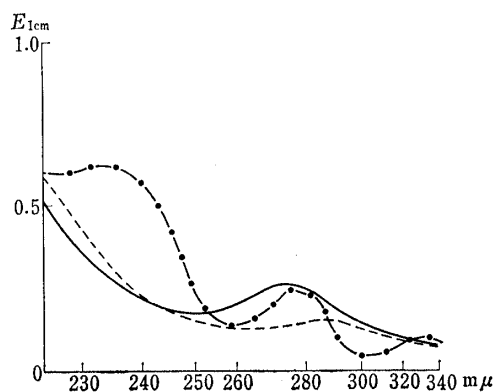


Abb. 1. Ultraviolett-Spektren (in Äthanol)

— FeCl₃-K₃Fe(ON)₆-Reaktion Positive Substanz in Lebern
 - - - FeCl₃-K₃Fe(ON)₆-Reaktion Positive Substanz+NaBH₄
 ●●● Ubichromenol (35) (I)

(Eingegangen am 5. Februar, 1965)

5) I. Chmielewska : Biochim. Biophys. Acta, 39, 170 (1960); P. J. Russell, Jr., A. F. Brodie: *Ibid.*, 50, 76 (1961); A. Asano, A. F. Brodie, A. F. Wagner, P. E. Wittreich, K. Folkers : J. Biol. Chem., 237, PC 2411 (1962); M. Vilkas, E. Lederer : Experientia, 18, 546 (1962); A. F. Wagner, A. Lusi, C. H. Shunk, B. O. Linn, D. E. Wolf, C. H. Hoffman, R. E. Erickson, B. Arison, N. R. Trenner, K. Folkers : J. Am. Chem. Soc., 85, 1534 (1963); R. E. Erickson, A. F. Wagner, K. Folkers : *Ibid.*, 85, 1535 (1963); H. W. Moore, K. Folkers : *Ibid.*, 86, 3393 (1964); E. Lederer : Experientia, 20, 473 (1964).