

ner Gewebekulturen dar, weil einerseits das zweitägige Weiterwachstum nach der Entfernung der aktiven Lösung zu einer Aktivitätsabnahme führen mußte, und weil andererseits — was zweifellos viel mehr ausmacht — die löslichen Zellbestandteile ausgewaschen worden waren.

Durch einfache Rechnung³ läßt sich zeigen, daß die Strahlungs-dosis der Gewebe < 1 Röntgen/Tag war, eine Schädigung also nicht zu fürchten ist.

In den folgenden Versuchen soll nun die Aktivität der einzelnen chemischen Fraktionen untersucht werden.

Wir danken Herrn Prof. Dr. *L. Ebert*, Prof. Dr. *V. Patzelt* und Prof. Dr. *E. Schmid* für ihr förderndes Interesse, den Österreichischen Stickstoffwerken A. G., Linz, sowie der Österreichischen Gesellschaft zur Erforschung und Bekämpfung der Krebskrankheit für finanzielle Unterstützung (im letzteren Falle aus den Mitteln der *Sonnleithner*-Stiftung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften), unserem Kollegen Herrn *G. Rohringer* für den Bau des erforderlichen Hochspannungszählgerätes und unseren Kollegen Herrn Dr. *T. Schönfeld* und *H. Schönfelliger* für wertvolle Diskussion.

Über zwei Isomere der 3,7,12-Triketocholansäure (Dehydrocholsäure) mit verschiedener biologischer Aktivität.

(Kurze Mitteilung.)

Von

A. Lindner und W. Schneider,

Pharmakologisches Institut der Universität Wien,

und

G. Friedrich, E. Kerschbaum und F. Wessely,

II. Chemisches Laboratorium der Universität Wien und wissenschaftliches
Laboratorium der Fa. „Sanabo“, Wien.

(Eingelangt am 10. Juli 1952. Vorzulegen in der Sitzung am 16. Okt. 1952.)

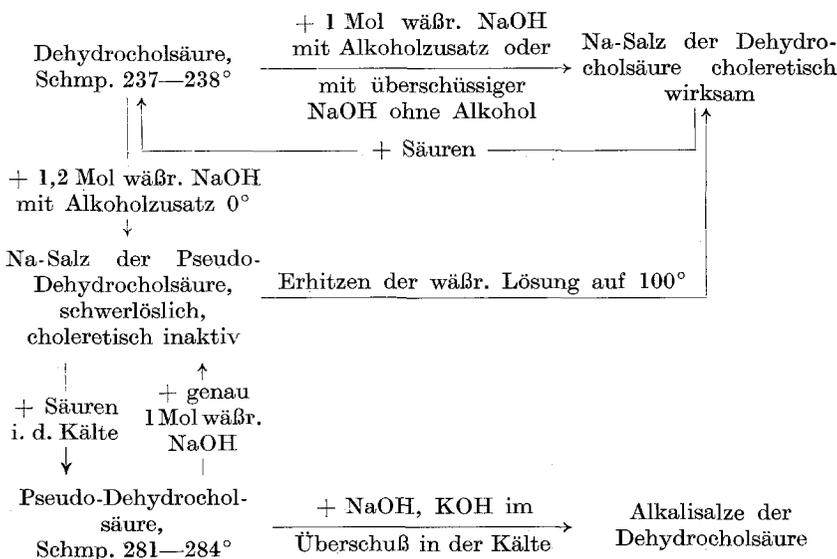
Anlässlich der Prüfung neuer synthetischer Verbindungen mit vermuteter choleretischer Wirkung am pharmakologischen Institut ist uns (*A. L.* und *W. Sch.*) aufgefallen, daß zwei aus verschiedenen Quellen stammende, als chemisch rein bezeichnete Na-Salze der Dehydrocholsäure, die wir als Vergleichssubstanzen verwenden wollten, keine Wirkung auf die Gallenproduktion zeigten. Die choleretische Wirkung wurde an Ratten mit kanüliertem Ductus choledochus in Urethannarkose durch

³ Siehe z. B. *E. Broda*, Österr. Chemiker-Ztg. **52**, 95 (1951).

Gewichtsbestimmungen der in 10 Min. produzierten Gallenmengen untersucht. Ein Ampullenpräparat von dehydrocholsaurem Natrium zeigte hingegen an Versuchstieren, bei denen frisch bereitete Lösungen obiger Salze völlig unwirksam waren, bei gleicher Dosierung einen mächtigen choleretischen Effekt.

Es lag nun der Gedanke nahe, daß die choleretische Wirkung des Ampullenpräparates erst beim Erhitzen im Verlauf des Sterilisierungsverfahrens zustande kommen könnte. Es zeigte sich tatsächlich, daß eine 1%ige Lösung von primär choleretisch inaktivem Na-Salz der Dehydrocholsäure nach 5 Min. langem Erhitzen im Wasserbad zirka 30%, nach 10 Min. zirka 60% und nach 15 Min. fast 100% der maximal erreichbaren choleretischen Aktivität zeigte. Bei einem länger dauernden Verbleiben der Lösungen im Wasserbad nimmt die fördernde Wirkung auf die Gallenproduktion nicht mehr nennenswert zu. Außerdem fiel uns auf, daß der relativ schwach bittere Geschmack inaktiver Lösungen nach der Wärmeeinwirkung erheblich an Intensität zunimmt. Die Hitzeaktivierung primär inaktiver Lösungen konnte in mehr als 20 Versuchen bestätigt werden.

Tabelle 1.



Im Laufe von Versuchen, die sich mit der Frage nach den chemischen Unterschieden, die diesem verschiedenen physiologischen Verhalten zugrunde liegen, befaßten, wurde am II. Chem. Universitätslaboratorium und im wissenschaftlichen Laboratorium der Fa. „Sanabo“, Wien (G. F., E. K. und F. W.), folgendes festgestellt:

Tabelle 2.

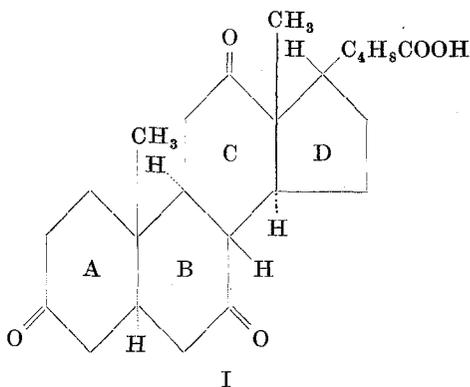
Substanz	Schmp. (Kofler)	$[\alpha]_D^{20}$	Analytische Werte
Dehydrocholsäure $C_{24}H_{34}O_5$	237—8° (Zers.)	+ 29,6 in Eisessig	Ber. C 71,61, H 8,51, Äquiv.-Gew. 402,5 Gef. C 71,34, H 8,45, Äquiv.-Gew. 399,3
Na-Salz der Dehydrocholsäure Pseudo-Dehydrocholsäure $C_{24}H_{34}O_5$	281—4° (Zers.)	+ 24,9 in Wasser + 53,1 in Eisessig	Ber. C 71,61, H 8,51, Äquiv.-Gew. 402,5 Gef. C 71,49, H 8,51, Äquiv.-Gew. 400,1
Na-Salz der Pseudo-Dehydrocholsäure Dehydrocholsäuremethylester $C_{25}H_{36}O_5$	238—242° (Zers.)	+ 42,0 in Wasser + 20,2 in $CHCl_3$	Ber. OCH_3 7,45, aktiver Wasserstoff 0 Gef. OCH_3 7,66
Pseudo-Dehydrocholsäuremethylester $C_{25}H_{36}O_5$	246—248° (Zers.)	+ 7,45 in $CHCl_3$	Ber. OCH_3 7,45, aktiver Wasserstoff 0 Gef. OCH_3 7,62

Die Dehydrocholsäure vom Schmp. 237° (I) gibt, mit der berechneten oder überschüssigen Menge wäßriger NaOH in der Kälte oder Hitze versetzt, ein choloretisch aktives Na-Salz. Wenn man aber Dehydrocholsäure in alkoholischer Suspension mit etwas überschüssiger wäßriger NaOH (1,2 Mol) versetzt, so scheidet sich ein in der Alkohol-Wasser-Mischung schwer lösliches Na-Salz ab, das auch in Wasser etwas schwerer löslich ist als das oben erwähnte Na-Salz der Dehydrocholsäure. Es zeigt in wäßriger Lösung keine choloretische Wirkung. Erhitzt man die wäßrige Lösung dieses inaktiven Na-Salzes auf 100°, so ändert sich parallel mit dem oben angeführten Wiederauftreten der choloretischen Wirkung das Drehungsvermögen. Beim Ansäuern dieser physiologisch aktiven Lösung vom $[\alpha]_D = +24,9°$ erhält man wieder die Dehydrocholsäure vom Schmp. 237°. Säuert man dagegen die nicht erhitzte Lösung des schwerer löslichen Na-Salzes an, so erhält man eine Verbindung vom Schmp. 281 bis 284° und der Zusammensetzung der Dehydrocholsäure, die sich auch im UV-Spektrum von ihr nicht unterscheidet. Wir haben dieser Verbindung den Namen „Pseudo-Dehydrocholsäure“ gegeben. Sie ist in den üblichen Lösungsmitteln viel schwerer löslich als die Dehydrocholsäure. Wie schon erwähnt, ist sie unbeständiger als diese und geht namentlich in alkalischer Lösung leicht in die Dehydrocholsäure vom Schmp. 237° über.

Die geschilderten Umsetzungen sind in der Übersichtstabelle I zu-

sammengestellt. Die physikalischen Daten der beiden Säuren, ihrer Na-Salze und der aus ihnen mit CH_2N_2 gewonnenen Methylester zeigt die Tabelle 2. Die beiden Methylester zeigen eine geringe, aber deutliche Depression der Schmelzpunkte.

Wir vermuten, daß es sich hier um eine Stereoisomerie handelt. Für die Dehydrocholsäure wird trans-Verknüpfung der Ringe B und C angenommen¹ und es erscheint möglich, daß über eine Enolisierung der Ketogruppe an C_7 in der Pseudo-Dehydrocholsäure eine Verbindung entsteht, in der die genannten Ringe cis-ständig verknüpft sind. Diese Vermutung wird von uns durch weitere physikalische und chemische Untersuchungen überprüft werden. Für unsere



Anschauung spricht die Tatsache, daß es uns nicht gelungen ist, die 3,12-Diketocholansäure bei entsprechender Behandlung mit Natronlauge und Alkohol in eine isomere Säure umzuwandeln; bei dieser Verbindung fehlt die Ketogruppe an C_7 . Daß eine cis-trans-Umlagerung von Ketochocholsäuren möglich ist, folgt aus den Versuchen von *Windaus* an der 3,6-Diketocholansäure² und von *Wieland* an der 3-Oxy-6-ketocholansäure³. Es ist den beiden Forschern gelungen, von den von ihnen aus Naturprodukten gewonnenen, der Koprostanreihe angehörenden Verbindungen (cis-Verknüpfung der Ringe A und B) durch Alkalibehandlung zu den entsprechenden Verbindungen der Cholestanreihe (trans-Verknüpfung der Ringe A und B) zu kommen. Die nähere Untersuchung der von uns beobachteten Isomerie erscheint von Interesse, weil unseres Wissens bisher keine Verbindung der Steroidreihe bekannt ist, in der die Ringe B und C cis-ständig verknüpft sind⁴.

¹ *H. Wieland*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **186**, 232 (1930).

² *A. Windaus* und *A. Bohne*, Liebigs Ann. Chem. **433**, 280 (1923). — *A. Windaus*, *ibid.* **447**, 234 (1926).

³ *H. Wieland* und *E. Dane*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **212**, 42 (1932).

⁴ *A. Heusner*, Angew. Chem. **63**, 59 (1951).