

# *Acta Medica Okayama*

---

*Volume 6, Issue 2*

1938

*Article 7*

JULI 1939

---

## Über die sog. Taurocholase und Glykocholase in Organen und Geweben.

Kumao Takahashi\*

\*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

# Über die sog. Taurocholase und Glykocholase in Organen und Geweben.\*

Kumao Takahashi

## Abstract

Die Gegenwart des die Glyko- sowie Taurocholsauren spaltenden Fermentes (Cholase) als Organpulver oder Glyzerinextrakt in verschiedenen Organen und Geweben, sowie ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften wurden untersucht und dabei folgende Ergebnisse gewonnen : 1. Die Cholase kommt in abnehmender Reihe in Niere, Leber, Skelettmuskel in ziemlich großer Menge vor, in nur geringer Menge in absteigender Reihe in Herzmuskel, Milz, Lunge und Hoden. Die meiste Cholase wurde in der Hundeniere vorgefunden. Dann folgen der Wirksamkeit nach in absteigender Reihe : Rattenleber Kanincheniere und Kaninchenleber. 2. Die Wirkung der Cholase tritt am stärksten nach 72 Stunden Digestion auf und ihr optimaler pH-Wert liegt bei 7.0 und 9.0. 3. Durch dieses Ferment wird die Glykocholsäure leichter zerlegt als die Taurocholsäure. 4. Die Cholase ist gegen Säure und Alkali bei pH-Wert zwischen 3.0-11.0 ziemlich beständig, und noch wirksam bei Halten auf 650°C. 5. Das Ferment als Glyzerinextrakt ist an Kieselgur, Tierkohle, Kaolin und Tonerde adsorbierbar und zwar an die letztere am stärksten und bei pH=3.7-4.5. Das Tonerdeadsorbat wird mittelst der Ammonphosphatlösung leicht eluiert und das Eluat, verglichen mit dem ursprünglichen Glyzerinextrakt, hundertfach an Cholase angereichert. 6. Beständigkeit der Cholase gegen Säure und Alkali, ihr Verhalten gegen Temperatur und Adsorptionsbedingungen an Tonerde u.s.w. erinnern wohl an das Histozytm, aber es läßt sich nicht entscheiden, ob die Cholase mit dem Histozytm identisch ist.

---

\*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

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

## Über die sog. Taurocholase und Glykocholase in Organen und Geweben.

Von

**Kumao Takahashi.**

*Eingegangen am 2. Februar 1939.*

Seitdem *Karasawa*<sup>1)</sup> (1926) die Spaltbarkeit der Glykocholsäure in ihre Komponenten Glykokoll und Cholsäure durch die Stierhodenautolyse bewiesen hat, wurde die Zerlegung der gepaarten Gallensäuren in Organen und Geweben von vielen Forschern untersucht. *Rosenthal*<sup>2)</sup> (1927) fand, daß Taurocholsäure im Mausorganismus bzw. im Leber- oder Milzbrei fermentativ in ihre Komponenten gespalten, und *Smorodinzew*<sup>3)</sup> (1922), daß sie durch das Ferment, das Histozytm der Niere von Pferd und Schwein, oder durch das der Leber und des Skelettmuskels vom Hund bei 5 Tage langer Bebrütung hydrolysiert werden kann.

Neuerdings hat *W. Grassmann*<sup>4)</sup> (1931) den Versuch *Smorodinzews* nachgeprüft und festgestellt, daß wohl durch Einwirkung von Glycerinextrakt des Nierenbreis gepaarte Gallensäuren nach 24–135 Stunden in ihre Komponenten gespalten werden konnten, nicht aber durch die Einwirkung von Glycerinextrakt von Leber, Pankreas oder Darmschleimhaut.

Der Nachweis von Glykocholase oder Taurocholase in Organen und Geweben wurde, mit Ausnahme *Karasawas*<sup>1)</sup>, gasometrisch oder titrimetrisch erbracht.

*Frankel*<sup>5)</sup> (1936) hat auch durch Einwirkung des Histozyms in der Leber von Hund und Ochsen auf die gepaarte Gallensäure das dabei abgespaltene Glykokoll mittelst Formoltitration nach *Sørensen* bestimmt und gefunden, daß das Leberhistozym die Glykocholsäure nicht zerlegte.

Die Frage, ob diese Tauro- oder Glykocholase mit dem Histozytm identisch ist, steht noch offen. In welchem Organe oder Gewebe dieses Ferment enthalten ist, steht auch noch nicht fest.

Demgemäß habe ich das Ferment in verschiedenen Organen und Geweben von Ochs, Schwein, Kaninchen, Hund und Ratte

teils durch Isolierung der dabei abgespaltenen Cholsäure quantitativ genau untersucht und seine physikalischen und chemischen Eigenschaften verfolgt, einerseits um feststellen zu können, ob die Glykocholase und Taurocholase mit dem die Hippursäure zerlegenden Histozytm identisch ist oder nicht, und andererseits, um die physiologische Bedeutung des Fermentes im Organismus zu erkennen.

### Experimenteller Teil.

Als Fermentlösung wurde getrocknetes Organ- bzw. Gewebepulver oder Glyzerinextrakt davon zum Versuch verwendet. Über die Frage, ob das Ferment durch Glyzerin extrahiert werden kann, brachten die Ergebnisse der verschiedenen Autoren keine Klarheit, indem nämlich nach *Smorodinzew*<sup>3)</sup> (1922) das Ferment durch Wasser oder durch wässriges Glyzerin nicht aus den Organen gezogen werden kann, nach *Grassmann* und *Frankel* aber sehr gut.

Das Organpulver wurde in der Weise hergestellt, daß das von Fett- und Bindegewebe gut befreite Organ im Mörser völlig zu Brei zerrieben, unter Zusatz der dreifachen Menge Azeton im Schüttelapparat 12 Stunden lang geschüttelt, abfiltriert, weiter zuerst mit der zweifachen Menge Azeton und dann nochmals mit Azetonäthergemisch gewaschen wurde. Der Rückstand wurde bei Zimmertemperatur gut getrocknet und mittelst des *Soxhlet*schen Apparates mit Äther 24 Stunden lang extrahiert, wieder im Mörser zerkleinert und durch ein feines Sieb durchgelassen. Das so erhaltene feine Pulver wurde als Organpulver zum Versuch verwendet.

Zur Bereitung des Glyzerinextraktes wurden die Organe zu Brei zerkleinert und mit dem dreifachen Volumen Glyzerin versetzt, 12 Stunden lang geschüttelt und in der Kälte langsam abfiltriert, wobei eine klare Lösung gewonnen wurde. Zum Versuch wurde diese Lösung unter zweifacher Verdünnung verwendet.

Die Substrate, also die Glykocholsäure und die Taurocholsäure, von denen die erstere aus Rindergalle und die letztere aus Hundegalle rein dargestellt wurde, wurden beide als eine 1%ige Natriumsalzlösung zur Verfügung gestellt.

Die Versuchsanordnung ist in folgender Tabelle 1 angegeben.

Das Gemisch wurde steril im *Erlenmeyerschen* Kolben im Brutschrank bei 37° unter täglich mehrmaligem Schütteln 24–96 Stunden lang stehen gelassen. Von 2 cc des Gemisches wurde nach *Van Slyke* der Aminostickstoff gasometrisch bestimmt, der sich von dem durch Zerlegung der gepaarten Gallensäuren freigewordenen und durch Autolyse des Organpulvers oder des Glyzerinextraktes ge-

spaltenen Aminostickstoffe bilden konnte. Der in den folgenden Tabellen angegebene Stickstoff in cc wurde bei 0°C und einem Atomosphärendruck reduziert angegeben.

Tabelle 1.

|   | Gallen-<br>säurelös.<br>(cc) | Organ-<br>pulver<br>(g) | Glyzerin-<br>extrakt<br>(cc) | Puffer-<br>lös.<br>(cc) | Wasser<br>(cc) | Toluol<br>(cc) | Bemerk.   |
|---|------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|----------------|----------------|-----------|
| 1 | 4.0                          | 0.6                     | —                            | 20                      | —              | 1.0            |           |
| 2 | 4.0                          | —                       | 5.0                          | 20                      | —              | 1.0            |           |
| 3 | —                            | —                       | 5.0                          | 20                      | 4.0            | 1.0            | Kontrolle |
| 4 | —                            | 0.6                     | —                            | 20                      | 4.0            | 1.0            | „         |

Nach *Karasawa*<sup>1)</sup> (1927) wird die Autolyse der Organe durch Gallensäure gehemmt, weshalb beim eigentlichen Versuch manchmal eine etwas geringere Stickstoffzunahme vorgefunden wird als beim Kontrollversuch. Nach langer Digestion aber liegen die Verhältnisse umgekehrt, wie aus den Tabellen ersichtlich ist. Die Zeit, in welcher die Stickstoffzunahme im eigentlichen Versuche größer wird als bei der Kontrolle, zeigt eben, daß die gepaarten Gallensäuren durch das Ferment in ihre Komponenten hydrolysiert wurden.

## Ergebnisse.

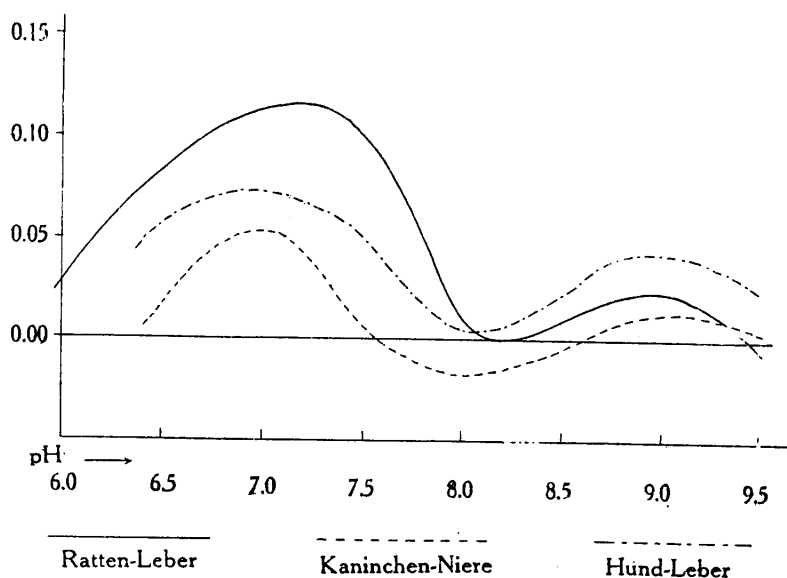
1. *Zeitlicher Verlauf.* Um den zeitlichen Verlauf der Spaltung der gepaarten Gallensäuren durch Glyko- oder Taurocholase festzustellen, wurde die Digestion 24–48–72–96 Stunden lang bei 37–38°C und bei verschiedenem pH-Wert ausgeführt. Dabei zeigte sich, daß bei 72 Stunden Digestion die Spaltung der gepaarten Gallensäuren am stärksten auftritt, und daß unterhalb sowie oberhalb dieser Zeitdauer der Digestion das Ferment für den Versuch nicht geeignet ist.

2. *Optimaler pH-Wert.* Betreffs des optimalen pH-Wertes werden von den Autoren ganz verschiedene Angaben gemacht. Nach *Grassmann*<sup>4)</sup> (1931) liegt er bei 8.0, nach *Mazza* u. *Stolfi*<sup>6)</sup> (1932) bei 6.0 und nach *Kimura*<sup>7)</sup> (1928) bei 6.4 und 7.2.

Bei meinem Versuche ergibt sich aus der folgenden Figur 1, daß der optimale pH der Cholase bei 7.0 und 9.0 liegt, obwohl die Wirkung der Cholase bei pH=9.0 viel schwächer auftritt als bei pH=7.0.

Die Verschiedenheit des optimalen pH-Wertes bei den einzelnen Autoren ist höchstwahrscheinlich auf verschiedene Darstellungsmethoden zurückzuführen.

Figur 1.



3. *Cholase in verschiedenen Organen.* Was die Verteilung der Cholase in Organen und Geweben betrifft, so werden darüber von den einzelnen Autoren verschiedene Angaben gemacht, und zwar ist sie nach *Smorodinzew*<sup>3)</sup> (1922) in Leber, Niere und Skelettmuskel vorhanden, nach *Grassmann* nicht in Leber, Darm, Pankreas, wohl aber in der Niere, nach *Rosenthal*<sup>2)</sup> (1927) in Leber und Milz, nach *Frankel* nicht in der Leber, während nach meinem Versuch die Cholase, ausgenommen im Darm und Pankreas des Hundes, in den meisten Organen enthalten ist.

Dem Gehalt an Cholase nach folgen sich die Organe in der absteigenden Reihe: Hundeniere, Rattenleber, Kaninchenniere, Kaninchenleber, Hundeleber und Schweineleber. Bei einem und demselben Tier ist die Cholase dem Gehalt nach in folgender absteigenden Reihe enthalten: Niere, Leber, Skelettmuskel, auch ein wenig im Herzmuskel, in der Milz, Lunge und im Hoden.

Der Übersichtlichkeit halber wurde der durch Cholase in verschiedenen Organen und Geweben aus gepaarten Gallensäuren abgespaltene Aminostickstoff in cc bei pH=7.0 und 72 Stunden langer Digestion in der folgenden Tabelle 2 zusammengestellt. Diese Zusammenfassung erfolgte aufgrund von 36 Versuchen mit Organpulver (32) und Glyzerinextrakt (4) von verschiedenen Organen und Geweben von Ochsen, Schweinen, Ratten, Kaninchen und Hunden; die Versuche wurden bei 7 verschiedenen pH (6.47–6.91–7.65–7.94–8.51–9.09–9.50) und bei 4 verschiedenen Zeitdauern der Digestion

(24–48–72–96 Stunden) vorgenommen. Hier sind die Daten bei pH=7.0 und 72 Stunden Digestion angegeben.

Tabelle 2. Der durch Cholase abgespaltene Aminostickstoff.  
(pH=7.0 72 Stunden Digestion.)

| Organe          | 1/100 cc bei 0°C und 760 mm Hg. |                |
|-----------------|---------------------------------|----------------|
|                 | Glykocholsäure                  | Taurocholsäure |
| Ochsenniere     | 3.2                             | 2.1            |
| Ochsenleber     | 2.3                             | 1.5            |
| Ochsenmilz      | 2.3                             | 1.2            |
| Schweineniere   | 2.4                             | 2.3            |
| Schweineleber   | 4.6                             | 1.1            |
| Kaninchenniere  | 6.3                             | 2.7            |
| Kaninchenleber  | 5.8                             | 0.8            |
| Hundeniere      | 15.3                            | 7.8            |
| Hundeleber      | 6.3                             | 0.6            |
| Hundemuskel     | 2.6                             | 3.2            |
| Hundehoden      | 2.5                             | 2.2            |
| Hundeherzmuskel | 2.6                             | 3.2            |
| Hundelunge      | 2.1                             | —0.7           |
| Hundepankreas   | 1.1                             | —1.3           |
| Hundedarm       | —1.9                            | —1.5           |
| Rattenleber     | 11.4                            | 3.3            |

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß die Glykocholsäure durch dieselbe Cholase in den Organen viel leichter gespalten wird als die Taurocholsäure, worauf schon *Grassmann*<sup>4)</sup> (1931) hingewiesen hat, indem es sich herausstellte, daß wohl die Glykocholsäure durch die Cholase von Lunge und Pankreas des Hundes gespalten wird, nicht aber die Taurocholsäure.

#### 4. Eigenschaften der Cholase.

1) Verhalten gegen Temperatur. 15 cc Glyzerinextrakt aus Nieren von Ochsen bzw. Schweinen wurden mit Wasser zweifach verdünnt und in 6 Kolben verteilt, von denen der eine ohne weiteres behandelt und die anderen eine Stunde lang auf 60°–65°–70°–75°–80°C erwärmt wurden.

In jedem Kolben wurden 4 cc einer 1%igen gepaarten Gallensäurelösung, 20 cc eines Phosphatgemisches von pH=7.0 und 1 cc Toluol versetzt und das Gemisch 72 Stunden lang im Brutschrank bei 37–38°C stehen gelassen. Mit 1 cc dieses Gemisches wurde der durch Cholase abgespaltene Aminostickstoff gasometrisch bestimmt.

Über die sog. Taurocholase und Glykocholase in Organen und Geweben. 221

Aus Tabelle 3 läßt sich ersehen, daß beim Erwärmen des Glycerinextraktes auf 70°C eine Spaltung der gepaarten Gallensäuren durch Cholase bzw. der Taurocholsäure fast nicht und bei 75°C gar nicht auftrat.

Die Tötungstemperatur der Cholase liegt also zwischen 65°C und 70°C, wie *Kimura*<sup>7)</sup> (1928) bei seinem Versuch mit Histozytm beobachtet hat.

Tabelle 3. Abgespaltener Aminostickstoff 1/100 cc  
bei 0°C und 760 mm Hg.

(72 Stunden Digestion bei pH=7.0)

| Temperatur<br>0°C | Schweineniere  |                | Ochsenniere    |                |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                   | Glykocholsäure | Taurocholsäure | Glykocholsäure | Taurocholsäure |
| Zimmertemp.       | 3.1            | 1.3            | 3.1            | 1.1            |
| 60                | 2.0            | 0.7            | 3.2            | 0.9            |
| 65                | 0.6            | 0.3            | 2.3            | 0.6            |
| 70                | 0.4            | 0.3            | 1.2            | 0.1            |
| 75                | —1.4           | —0.3           | 0.1            | —0.6           |
| 80                | —1.4           | —1.2           | —0.3           | —0.4           |

2) Verhalten gegen Säure und Alkali. In 10 Kolben wurden je 10 cc eines Glycerinextraktes aus den Nieren von Ochsen und Schweinen mit je 10 cc eines normalen Salzsäure-, Natronlaugegemisches von 10 verschiedenen pH-Werten (1-2-3-4-7-9-10-11-

Tabelle 4. Abgespaltener Aminostickstoff 1/100 cc  
bei 0°C und 760 mm Hg.

(72 Stunden Digestion bei pH=7.0)

| pH   | Schweineniere  |                | Ochsenniere    |                |
|------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|      | Glykocholsäure | Taurocholsäure | Glykocholsäure | Taurocholsäure |
| 1.0  | —2.2           | —2.1           | —2.4           | —1.6           |
| 2.0  | —0.9           | —1.3           | —1.3           | —1.8           |
| 3.0  | 0.7            | —0.7           | —0.9           | —0.8           |
| 4.0  | 1.3            | 1.1            | 1.2            | 0.5            |
| 7.0  | 2.3            | 1.6            | 1.8            | 1.2            |
| 9.0  | 2.6            | 1.7            | 1.3            | 0.8            |
| 10.0 | 0.7            | 0.6            | 1.1            | 0.6            |
| 11.0 | 1.3            | —0.3           | —0.6           | —0.6           |
| 12.0 | —0.3           | —0.6           | —0.8           | —0.8           |
| 13.0 | —1.9           | —1.3           | —1.9           | —0.9           |

12-13) versetzt und eine Nacht im Eisschrank stehen gelassen. Dann wurde das Gemisch je mit verdünnter Salzsäure oder Natronlauge gegen Lackmus neutralisiert und je bis zu einem Volumen von 30 cc mit Wasser aufgefüllt. Mit dieser Lösung wurde einzeln\* die Spaltung der gepaarten Gallensäure unter Zusatz von Phosphatgemisch von pH=7.0 genau wie bei Versuch 1) verfolgt.

Aus Tabelle 4 ergibt sich, daß die unterhalb pH=3 und oberhalb pH=11 behandelte Fermentlösung die gepaarten Gallensäuren nicht mehr spalten konnte. Die Cholase ist also gegen Säure und Alkali ziemlich beständig und erst bei Behandlung des Fermentes in der Lösung von pH=2 und pH=12 nicht mehr wirksam. Dies stimmt mit der Angabe *Kimuras*<sup>7)</sup> (1928), daß das Histozytm bei pH=1.2 oder 12.0 seine Wirkung verliert, überein.

3) Adsorptionsversuch. Es ist bekannt, daß das Ferment an verschiedene Kolloidsubstanzen adsorbiert wird und daß die Adsorptionskraft je nach dem Adsorbens verschieden stark ist. Einerseits um die Cholase zu reinigen und andererseits um das Wesen des Fermentes festzustellen, wurden Adsorptionsversuche mit dem Glycerinextrakt aus Schweineniere an Kieselgur, Tierkohle, Kaolin und Tonerde angestellt und das Adsorbat mit Ammoniumphosphat eluiert. Die Tonerde wurde nach *Willstätter* u. *Kraut*<sup>8)</sup> (1924) behandelt und als Polyaluminiumhydroxyd B zum Versuch verwendet.

Die Pufferlösung wurde nach *Sørensen* aus Zitronensäure und Salzsäure, Zitronensäure-Natronlauge-Phosphat oder Borat und Natronlauge von pH=3.7-4.5-6.0-7.0-9.5 hergestellt.

Der Adsorptionsversuch wurde in folgender Anordnung angestellt.

| Name              | Menge | Adsorbens<br>(g) | Glycerinextrakt<br>(cc) | Pufferlösung<br>(pH=3.7-9.5)<br>(cc) |
|-------------------|-------|------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| Kieselgur         |       | 1.0              | 6.0                     | 14                                   |
| Tierkohle         |       | "                | "                       | "                                    |
| Kaolin            |       | 0.4              | "                       | "                                    |
| Tonerdesuspension |       | 5.0 cc           | "                       | "                                    |

Nachdem das Gemisch je eine Stunde stehen gelassen worden war, wurde es unter Neutralisation mit n/10 Salzsäure und n/10 Natronlauge abfiltriert. Das Filtrat wurde als rohe Fermentlösung verwendet. 5 cc jedes einzelnen Filtrates wurden mit 20 cc einer Pufferlösung von pH=7.0 und 4 cc einer 1%igen gepaarten Glyko- oder Taurocholatlösung versetzt und weiter unter Zusatz von 1 cc Toluol im Brutschrank bei 37-38°C 72 Stunden lang digeriert. Mit 1 cc

Über die sog. Taurocholase und Glykocholase in Organen und Geweben. 223

dieses Gemisches wurde der Aminostickstoff gasometrisch bestimmt.  
Die Resultate sind in folgender Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 5. Abgespaltener Aminostickstoff 1/100 cc  
bei 0°C und 760 mm Hg.  
(72 Stunden Digestion.)

| pH  | Adsorbens | Glykocholsäure | Taurocholsäure |
|-----|-----------|----------------|----------------|
| 3.7 | —         | 1.8            | 1.4            |
|     | Kieselgur | 1.3            | 1.6            |
|     | Tierkohle | 1.4            | 1.0            |
|     | Kaolin    | 1.7            | 1.1            |
|     | Tonerde   | 0.6            | 0.5            |
| 4.5 | —         | 1.7            | 1.3            |
|     | Kieselgur | 1.3            | 1.0            |
|     | Tierkohle | 1.0            | 0.6            |
|     | Kaolin    | 1.5            | 1.1            |
|     | Tonerde   | 0.4            | 0.7            |
| 6.0 | —         | 2.0            | 2.1            |
|     | Kieselgur | 0.9            | 0.8            |
|     | Tierkohle | 1.4            | 0.9            |
|     | Kaolin    | 1.7            | 1.7            |
|     | Tonerde   | 1.1            | 1.3            |
| 7.0 | —         | 2.4            | 1.3            |
|     | Kieselgur | 1.7            | 0.8            |
|     | Tierkohle | 0.8            | 0.9            |
|     | Kaolin    | 2.4            | 1.1            |
|     | Tonerde   | 0.9            | 1.0            |
| 9.5 | —         | 2.1            | 1.3            |
|     | Kieselgur | 1.2            | 0.4            |
|     | Tierkohle | 1.4            | 1.2            |
|     | Kaolin    | 1.7            | 1.4            |
|     | Tonerde   | 0.8            | 1.0            |

Die Cholase in der Niere wird also an Tonerde am stärksten adsorbiert und zwar bei pH=3.7-4.5. Der Adsorptionskraft nach wird das Ferment in der absteigenden Reihe: Tierkohle, Kieselgur und Kaolin adsorbiert.

Elution der Fermente: Eluierung der an Tonerde adsorbierten Cholase durch Ammonphosphat wurde nach *Willstätter*<sup>9)</sup> (1923) und

*Kimura*<sup>7)</sup> (1928) ausgeführt. Dabei wurde der Glyzerinextrakt aus 100 g Schweineniere mit Wasser zweifach verdünnt und nach Zusatz von 15 g Kieselgur gut durchgerührt. Nachdem das Gemisch abfiltriert worden war, wurde ein kleiner Teil des Filtrates zur Kontrolle benutzt, der größere Teil mit n-Essigsäurelösung versetzt, bis die Lösung pH=3.8 betrug, und unter Zusatz von 100 cc Tonerde-B-Suspension eine Stunde lang aufbewahrt. Dieses Gemisch wurde abzentrifugiert, in Zentrifugat und Rückstand geteilt, das erstere unter Neutralisation mit n/10 Natronlauge ohne weiteres zum Versuch verwendet und der Rückstand mit 20 %iger Glyzerinlösung durchgerührt und wieder zentrifugiert. Dieses Adsorbat wurde mit 60 cc einer Ammonphosphatlösung (57 Teile 1 %ige Ammonphosphatlös., 3 Teile n-Ammoniaklös. und 40 Teile 87 %ige Glyzerinlös.) digeriert und wieder zentrifugiert, wobei eine klare Lösung erhalten wurde.

5 cc dieser Lösung wurden als Fermentlösung (Eluat) und 5 cc des neutralisierten Zentrifugates als Restlösung zum Versuch verwendet. Diese beiden Lösungen wurden je einzeln mit 20 cc einer Pufferlösung von pH=7 nach *Sørensen* und mit 4 cc einer 1 %igen Glyko- oder Taurocholatlösung versetzt. Das Gemisch wurde unter Zusatz von 1 cc Toluol im Brutschrank bei 37–38°C 48 bzw. 72 Stunden lang aufbewahrt und der dabei abgespaltene Aminostickstoff einzeln nach *Van Slyke* gasometrisch bestimmt. Die Resultate sind in Tabelle 6 angegeben.

‘ Tabelle 6. Abgespaltener Aminostickstoff 1/100 cc  
bei 0°C und 760 mm Hg.  
(bei pH=7.0.)

|                    | Stunden | Glykocholsäure | Taurocholsäure |
|--------------------|---------|----------------|----------------|
| Nicht adsorbiert { | 48      | 1.6            | 1.2            |
|                    | 72      | 2.1            | 1.1            |
| Restlösung {       | 48      | 0.2            | 0.1            |
|                    | 72      | 0.4            | 0.3            |
| Eluat {            | 48      | 2.2            | 1.6            |
|                    | 72      | 3.1            | 1.7            |

Aus den Ergebnissen der Tabelle 6 geht hervor, daß das die Glykocholsäure sowie Taurocholsäure spaltende Ferment durch Tonerde bei pH=7 gut adsorbiert wird, während eine Cholasewirkung der Restlösung fast nicht zu beobachten ist.

Um zu sehen, wie das Eluat durch Adsorption an Tonerde die Cholase angereichert hat, wurde das Eluat mit Wasser zwei- bis zweihundertfach in 6 verschiedenen Konzentrationen verdünnt und die Wirksamkeit dieser einzelnen Lösungen auf die gepaarten Gal-

lensäuren mit der des ursprünglichen Glycerinextraktes verglichen. Der Spaltungsversuch mit dieser Lösung wurde bei pH=7.0 und 48 Stunden Digestion genau wie vorher vorgenommen. Die Resultate sind in folgender Tabelle 7 zusammengefaßt angegeben.

Tabelle 7. Abgespaltener Aminostickstoff 1/100 cc  
bei 0°C und 760 mm Hg.

(bei pH=7.0 und 48 Stunden Digestion.)

| Glycerinextrakt | Glykocholsäure<br>1.8 | Taurocholsäure<br>1.4 |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|
| Verdünnung      |                       |                       |
| 10.0            | 2.9                   | 1.6                   |
| 20.0            | 3.3                   | 1.7                   |
| 50.0            | 1.3                   | 0.9                   |
| 100.0           | 1.9                   | 0.5                   |
| 150.0           | 0.5                   | 0.3                   |
| 200.0           | 0.1                   | 0.4                   |

Aus den Daten der Tabelle 7 geht hervor, daß das Eluat in hundertfacher Verdünnung fast genau die gleiche Wirksamkeit hat wie die des ursprünglichen Glycerinextraktes, bei weiterer Verdünnung aber allmählich abnimmt. Das Eluat wurde also durch Adsorption mittelst der Tonerde hundertfach an Cholase angereichert.

### Zusammenfassung.

Die Gegenwart des die Glyko- sowie Taurocholsäuren spaltenden Fermentes (Cholase) als Organpulver oder Glycerinextrakt in verschiedenen Organen und Geweben, sowie ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften wurden untersucht und dabei folgende Ergebnisse gewonnen:

1. Die Cholase kommt in abnehmender Reihe in Niere, Leber, Skelettmuskel in ziemlich großer Menge vor, in nur geringer Menge in absteigender Reihe in Herzmuskel, Milz, Lunge und Hoden. Die meiste Cholase wurde in der Hundeniere vorgefunden. Dann folgen der Wirksamkeit nach in absteigender Reihe: Rattenleber, Kaninchenniere und Kaninchenleber.

2. Die Wirkung der Cholase tritt am stärksten nach 72 Stunden Digestion auf und ihr optimaler pH-Wert liegt bei 7.0 und 9.0.

3. Durch dieses Ferment wird die Glykocholsäure leichter zerlegt als die Taurocholsäure.

226 K. Takahashi: Über die sog. Taurocholase und Glykocholase usw.

4. Die Cholase ist gegen Säure und Alkali bei pH-Wert zwischen 3.0–11.0 ziemlich beständig, und noch wirksam bei Halten auf 65°C.

5. Das Ferment als Glyzerinextrakt ist an Kieselgur, Tierkohle, Kaolin und Tonerde adsorbierbar und zwar an die letztere am stärksten und bei pH=3.7–4.5. Das Tonerdeadsorbat wird mittelst der Ammonphosphatlösung leicht eluiert und das Eluat, verglichen mit dem ursprünglichen Glyzerinextrakt, hundertfach an Cholase angereichert.

6. Beständigkeit der Cholase gegen Säure und Alkali, ihr Verhalten gegen Temperatur und Adsorptionsbedingungen an Tonerde u.s.w. erinnern wohl an das Histozytm, aber es läßt sich nicht entscheiden, ob die Cholase mit dem Histozytm identisch ist.

### Literatur.

<sup>1</sup> R. Karasawa, Jl. of Bioch. 6, 154, 1926. — <sup>2</sup> F. Rosenthal, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 122, 159, 1927. — <sup>3</sup> A. Smorodinzew, Zs. Physiol. Chem. 124, 123, 1922. — <sup>4</sup> W. Grassmann, Zs. Physiol. Chem. 198, 247, 1931. — <sup>5</sup> M. Frankel, Bioch. Jl. 30, 2111, 1936. — <sup>6</sup> F. P. Mazza u. G. Stolfi, Arch. di Sci. Biol. 17, 434, 1932. — <sup>7</sup> H. Kimura, Jl. of Bioch. 10, 207, 1928. — <sup>8</sup> R. Willstätter u. H. Kraut, Ber. d. deutsch. Chem. Gesell. 57, 1082, 1924. — <sup>9</sup> R. Willstätter u. E. Waldschmidt-Leitz, Zs. Physiol. Chem. 125, 133, 1923.

---