

Acta Medica Okayama

Volume 3, Issue 1

1932

Article 2

MÄRZ 1932

Gallensaurebildung. V. *Cortinellus shiitake* und Gallensaureausscheidung.

Saburoo Higashi*

*Okayama University,

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

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der med. Universität
Okayama (Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu).

Gallensäurebildung. V.
Cortinellus shiitake und Gallensäureausscheidung.

Von

Saburoo Higashi.

Eingegangen am 20. August 1931.

In den vorigen Mitteilungen (1930/31) wurde berichtet, dass die Gallensäureausscheidung in der Lebergalle des Hundes durch Fütterung von Ergosterin bzw. mit Ultraviolettstrahlen bestrahltem Ergosterin vermehrt wird. Weiter wurde beobachtet, dass in dem unverseifbaren Anteile des alkoholischen Extraktes von Okara aus Sojabohnen die Gallen- und Gallensäureausscheidung vermehrende Substanzen enthalten sind. Von diesen ist die eine in Methylalkohol schwer löslich, in Chloroform aber leicht löslich und ergibt die *Tortelli-Jaffesche* Reaktion. Diese Substanz verstärkt durch Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen ihre die Gallen- und Gallensäureausscheidung steigernde Wirkung.

Auf Grund der Daten habe ich dabei die Ansicht ausgesprochen, dass die Gallensäure aus den Sterinen bzw. aus den bestrahlten Sterinen der Ergosterinreihe in der Leber gebildet wird, weil einerseits die chemisch konstitutionelle Beziehung zwischen Sterinen und Gallensäure von *Wieland* (1912) sowie *Windaus* (1919) festgestellt wurde und andererseits die Glykocholeinsäure in der Blasengalle des Kaninchens ungefähr auf das 4 fache vermehrt wird, wenn die Kaninchen mit Okara anstatt mit grünen Gräsern gefüttert werden, wie dies von *Fukase* und *Fuziwaru* (1930) nachgewiesen worden ist.

Durch die Untersuchungen von *Sumi* (1928/29) wurde festgestellt, dass der Pilz Shiitake eine Menge von Ergosterin enthält. Es ist daher wohl möglich, dass durch Fütterung von Shiitake die Gallen- und Gallensäureausscheidung gefördert wird und der unverseifbare Anteil aus Shiitake bzw. aus seinen Bestrahlungsprodukten wohl die Gallen- und Gallensäureausscheidung vermehrt.

In diesem Sinne habe ich einem Hunde mit permanenter Gallenblasenfistel eine bestimmte Nahrung mit oder ohne Shiitake zugeführt und gefunden, dass die Gallenmenge sowie Gallensäureausscheidung durch seine Zufuhr gesteigert wird. (Siehe Tabelle 1).

Aus dem alkoholischen Extrakte von Shiitake habe ich ein Kristallpulver gewonnen, das aus Mannit und Ergosterin besteht; letzteres wurde durch Ausziehen des Kristallpulvers mit Äther erzielt. Die Ausbeute betrug ca. 8 g aus 2 Kg Shiitake. Dieser vom Mannit getrennte Teil fördert die Gallen- und Gallensäureausscheidung. (Siehe Versuche 1 u. 2 der Tabelle 2). Diese Substanz wurde aus verdünntem Alkohol und Azeton umkristallisiert. Die in Tafeln kristallisierte Substanz schmilzt bei 158–159°C und zeigt die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -136$ C. Bei der *Liebermannschen* Reaktion zeigt sie anfangs eine rote, dann rasch eine karminrote und blaugrüne Farbe, aber keine *Salkowskische* Reaktion. Die *Tortelli-Jaffesche* und die *Rosenheim-Reaktion* sind positiv. Dieser Kristall zeigt deutlich die Gallen- und Gallensäureausscheidung fördernde Wirkung. (Siehe Versuche 5 u. 6 der Tabelle 2).

Der von Ergosterin befreite Nadelkristall wurde als Mannit erwiesen, und die Ausbeute betrug aus 2 Kg Shiitake ca. 47 g. Die von Ergosterin und Mannit befreite alkoholische Mutterlauge wurde in Vakuum eingeeengt, der Rückstand wieder in Alkohol gelöst und unter Zusatz von Alkali verseift, um die Fettsäure zu entfernen. Dieser unverseifbare Anteil hat gleichfalls eine die Gallen- und Gallensäureausscheidung fördernde Wirkung. (Siehe Versuche 1 u. 4 der Tabelle 3).

Aus diesem unverseifbaren Anteile wurde noch 2.5 g rohes Ergosterin gewonnen. Dieser Kristall fördert die Gallen- und Gallensäureausscheidung. (Siehe Versuche 5 u. 6 der Tabelle 3).

Aus all den oben erwähnten Daten ergibt sich, dass in den Pilzen Shiitake eine die Gallen- und Gallensäureausscheidung fördernde Substanz, Ergosterin, enthalten ist und dass somit Shiitake als Cholagoga und Choleretica eine bedeutungsvolle Nahrung darstellt.

Experimenteller Teil.

Methodik. Die Versuchsanordnung wurde durchweg in der Weise gehandhabt, wie sie bereits in den vorigen Mitteilungen zur Durchführung gekommen ist.

1) Versuch mit Shiitake.

Hierbei wurden die Hunde mit einer bestimmten Nahrung gefüttert, ohne dass man sie die Galle aus der Fistel ablecken liess. Während der Versuchszeit wurde den Hunden 2–4 g Shiitake mit der Nahrung verabreicht und sein Einfluss auf die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung beobachtet.

24

S. Higashi:

Tabelle 1.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge (cc)	Spez. Gewicht	Aminostickstoff (mg)	Aminostickstoff		Taurocholsäure (mg)	Bemerkungen
				in 1 cc Galle (mg)	in 6 Stunden (mg)		
5/Feb.	50	1021	0.32	0.350	17.50	642.60	
6	53	1020	0.31	0.248	18.44	677.12	
7	45	1020	0.31	0.321	14.45	530.60	
8	33	1019	0.30	0.373	12.31	452.02	
9	24	1012	0.29	0.450	10.60	389.23	
10	30	1021	0.32	0.365	10.95	402.08	← Shiitake (2 g) gefüttert
11	25	1018	0.31	0.411	10.26	376.75	
12	20	1019	0.30	0.342	7.84	285.88	

Versuch 2.

15/Feb.	37	1016	0.29	0.349	12.91	474.06	
16	30	1017	0.28	0.360	10.80	396.58	
17	25	1015	0.32	0.342	8.55	313.96	
18	19	1018	0.30	0.355	6.75	247.86	
19	23	1017	0.27	0.305	7.02	257.78	← Shiitake (2 g) gefüttert
20	24	1016	0.28	0.226	5.42	199.02	
21	18	1015	0.30	0.201	3.62	132.93	

Versuch 3.

6/Apr.	37	1016	0.22	0.322	11.91	437.93	
7	32	1017	0.19	0.275	8.80	323.14	
8	23	1015	0.20	0.291	6.69	245.66	
9	18	1013	0.27	0.258	4.64	170.38	
10	25	1018	0.28	0.251	6.28	230.60	← Shiitake (4 g) gefüttert
11	20	1016	0.21	0.243	4.86	178.46	
12	17	1014	0.26	0.264	4.48	164.51	

Versuch 4.

6/Apr.	70	1012	0.34	0.211	14.77	542.35	
7	51	1012	0.32	0.265	13.52	496.45	
8	42	1011	0.36	0.280	11.76	431.83	
9	40	1010	0.37	0.248	9.92	364.26	
10	33	1010	0.36	0.232	7.65	280.91	
11	44	1013	0.34	0.231	10.16	373.08	← Shiitake (4 g) gefüttert
12	34	1012	0.35	0.206	7.00	257.04	

Aus den Versuchen 1, 2, 3 und 4 der Tabelle 1 lässt sich ersehen, dass die im Laufe von Tagen allmählich abnehmende Gallen- und Gallensäureausscheidung durch Fütterung von Shiitake gesteigert wird, um dann allmählich wieder abzunehmen. Diese Steigerung tritt an dem der Zufuhr von Shiitake folgenden Tage ein. Die Zunahme der Gallenmenge beträgt 21–25%, die der Gallensäuremenge zeigt indes eine 3.3–4.5%ige Steigerung, wenn die kleine Menge von 2 g Shiitake gefüttert wird, während bei Fütterung von 4 g Shiitake die Zunahme der Gallenmenge 33.3–41% und die der Gallensäuremenge 23.5–33.2% beträgt. Die Gallen- und Gallensäuremengen werden durch die Fütterung von Shiitake somit in dem Masse gesteigert, indem die Verabreichung von Shiitake gesteigert wird.

2) Versuch mit Alkohol-Ätherextrakt.

2 Kg von pulverisiertem Shiitake wurde mit 95%igem Alkohol wiederholt gut extrahiert, bis der Extrakt farblos blieb. Der alkoholische Extrakt wurde in Vakuum stark eingeengt und der dabei ausgeschiedene Kristall filtriert. Dieser Kristall wurde mit Äther wiederholt gut extrahiert und filtriert. Der vereinigte Ätherextrakt wurde unter Zusatz von wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und verdunstet. Der Rückstand von 0.5 g wurde dem Fistelhunde mit der Nahrung verabreicht und sein Einfluss auf die Gallen- und die Gallensäureausscheidung geprüft.

Aus den Versuchen 1 und 2 der Tabelle 2 ergibt sich, dass die Zunahme der Gallenmenge eine 25–44.4%ige und die der Gallensäuremenge eine 26.8–47.3%ige Steigerung zeigt. Der aus Ätherextrakt gewonnene Kristall betrug ca. 8 g. Aus Alkohol und Azeton wurde er wiederholt umkristallisiert und daraus ca. 1 g schöner glänzender Tafelkristall gewonnen. Er schmilzt bei 158–159°C. Die spezifische Drehung ist als 0.5%ige Lösung in Chloroform.

$$\alpha_D^{20} = -\frac{1.36 \times 100}{2 \times 0.5} = -136$$

Die *Liebermann*-Reaktion zeigte anfangs eine rote Farbe, die rasch in eine karminrote, dann in eine blaugrüne überging. Es gab keine *Salkowskische* Reaktion. Bei der *Rosenheim'schen* Reaktion zeigte sich anfangs eine rosenrote, dann unter Entfärbung allmählich eine grüne Farbe. Auch die *Tortelli-Jaffesche* Reaktion liess sich beobachten.

Aus den oben erwähnten Daten erhellt, dass der aus Ätherextrakt gewonnene Tafelkristall Ergosterin ist. Dieser Kristall oder sein mit Ultraviolettstrahlen bestrahltes Produkt von 0.2 g wurde wieder den Hunden gefüttert und sein Einfluss auf die Gallen- und Gallensäureausscheidung beobachtet.

Die Versuche 3-6 zeigen, dass bei Zufuhr von Ergosterin aus Shiitake die Zunahme der Gallenmenge 57.9-59% beträgt und die der Gallensäuremenge eine 53.6-64.2%ige Steigerung aufweist, während bei der von seinem Bestrahlungsprodukt die Zunahme der Gallenmenge 18.3-75% und die der Gallensäuremenge 134.4-236.7% beträgt. Diese Daten stimmen mit denen der ersten Mitteilungen gut überein. Das Ergosterin oder sein Bestrahlungsprodukt fördert somit die Gallen- und Gallensäureausscheidung.

Der von Ergosterin befreite Kristall aus alkoholischem Extrakte wurde in Wasser gelöst und unter Zusatz von Tierkohle entfärbt. Aus dem Wasser kristallisierte er sich in schönen Nadeln. Er schmeckt süß und schmilzt bei 166°C. Die spezifische Drehung ist als 2%ige wässrige Lösung $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0.03 \times 100}{2 \times 2} = +0.75$

Aus diesen Daten ergibt sich, dass der Kristall Mannit ist. Die Ausbeute betrug aus 2 Kg Shiitake 47 g, während *Yoshimura* und *Kanai* aus 2 Kg Shiitake 50 g gewonnen haben.

Tabelle 2.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge (cc)	Spez. Gewicht	Aminostickstoff (mg)	Aminostickstoff		Thurocholsäure (mg)	Bemerkungen
				in 1 cc Galle (mg)	in 6 Stunden (mg)		
6/März	28	1015	0.23	0.324	9.07	333.05	Ätherextrakt vom Produkte aus Alkohol-extrakt von Shiitake (0.5 g)
7	25	1013	0.24	0.365	9.12	334.88	
8	21	1012	0.23	0.381	8.00	293.76	
9	18	1016	0.27	0.301	5.42	199.02	
10	26	1015	0.23	0.307	7.98	293.03	
11	20	1014	0.29	0.268	5.36	196.82	
12	27	1013	0.29	0.224	4.05	148.72	

Versuch 2.

7/März	68	1017	0.30	0.34	15.91	584.22	Ätherextrakt vom Produkte aus Alkohol-extrakt von Shiitake (0.5 g)
8	62	1016	0.32	0.242	15.00	550.80	
9	51	1016	0.31	0.263	13.41	492.42	
10	44	1015	0.30	0.237	10.45	383.71	
11	40	1014	0.34	0.201	8.04	295.23	
12	50	1016	0.32	0.204	10.20	374.54	
13	43	1013	0.29	0.175	6.53	239.79	

Versuch 3.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge (cc)	Spez. Gewicht	Aminostickstoff (mg)	Aminostickstoff		Taurocholsäure (mg)	Bemerkungen
				in 1 cc Galle (mg)	in 6 Stunden (mg)		
21/März	36	1018	0.28	0.301	10.84	397.84	Ergosterin aus Ätherextrakt (0.2 g)
22	30	1017	0.29	0.283	8.49	311.75	
23	31	1017	0.30	0.285	8.84	324.60	
24	24	1016	0.29	0.310	7.44	273.20	
25	19	1017	0.27	0.284	5.40	198.29	
26	30	1015	0.31	0.276	8.28	304.04 ←	
27	23	1014	0.30	0.309	7.10	260.71	

Versuch 4.

27	55	1021	0.31	0.242	13.31	488.74	Ergosterin aus Ätherextrakt (0.2 g)
28	50	1022	0.32	0.211	10.55	387.40	
29	42	1019	0.30	0.208	10.40	381.89	
30	33	1018	0.33	0.230	7.54	276.87	
31	22	1020	0.34	0.225	4.95	182.06	
1/Apr.	35	1020	0.33	0.233	8.16	299.64 ←	
2	27	1017	0.31	0.234	6.32	232.07	
3	20	1016	0.32	0.210	4.20	154.22	

Versuch 5.

22	19	1017	0.20	0.604	11.47	421.18	bestrahltes Ergosterin aus Ätherextrakt (0.2 g)
23	20	1016	0.18	0.514	10.28	377.48	
24	13	1016	0.20	0.423	5.49	201.59	
25	8	1015	0.17	0.361	2.89	106.12	
26	14	1017	0.16	0.695	9.73	357.29 ←	
27	10	1014	0.19	0.430	4.30	157.85	

Versuch 6.

21	30	1014	0.29	0.512	15.36	564.02	bestrahltes Ergosterin aus Ätherextrakt (0.2 g)
22	20	1013	0.31	0.526	10.52	386.29	
23	17	1012	0.30	0.501	8.52	312.85	
24	12	1010	0.31	0.475	5.70	209.30	
25	25	1013	0.28	0.534	13.35	490.21 ←	
26	15	1010	0.29	0.443	6.65	244.19	
27	11	1012	0.32	0.422	4.64	170.38	

3) Versuch mit dem unverseifbaren Anteile und dem daraus gewonnenen Kristalle.

Das von Ergosterin und Mannit befreite alkoholische Filtrat wurde in Vakuum verdunstet und der Rückstand wieder in 1 Liter eines 95%igen Alkohols gelöst. Diese Lösung wurde unter Zusatz von 200 g Kaliumhydroxyd im Wasserbade 6 Stunden lang gekocht und filtriert. Dieses Filtrat wurde in Vakuum um die Hälfte eingengt und unter Erwärmung mit gleichen Mengen von 28%iger alkoholischer Kalziumchloridlösung versetzt, um die Fettsäure auszufällen. Das Gemisch wurde unter Umrührung mit Kältemischung abgekühlt und filtriert. Aus dem Filtrate wurde das überschüssige Kalzium durch Leitung von Kohlensäure befreit und das Filtrat in Vakuum zum Trocknen eingedampft. Der trockene Rückstand wurde mit Äther extrahiert. Aus dem mit Natriumsulfat getrockneten Ätherextrakte wurde ein Rückstand von ca. 2.5 g erhalten.

Dieser Rückstand von 0.2 - 0.5 g wurde den Fistelhunden mit der Nahrung verabreicht, um seinen Einfluss auf die Gallen- und Gallensäureausscheidung zu erkennen. Aus den Versuchen 1 - 4 der Tabelle 3 lässt sich ersehen, dass die Gallenausscheidung bei Fütterung von kleinen Mengen vielmehr um 17.3 - 30% herabgesetzt und die Gallensäureausscheidung nur um 3.4% gesteigert wird, während bei Fütterung von 0.5 g die Galle um 28.6 - 47.1% zunimmt und die Zunahme der Gallensäureausscheidung eine 54.7 - 58.8%ige Steigerung aufweist.

Diese die Gallen- und Gallensäureausscheidung fördernde Substanz wurde unter Entfärbung mit Tierkohle aus Alkohol oder Azeton abermals umkristallisiert. Hierbei wurden schöne glänzende Tafelkristalle von 0.5 g vom Schmelzpunkt 158 - 159°C erhalten. Der Kristall zeigte dieselbe Farbenreaktion wie der des zweiten Versuches.

Auf Grund der Daten stimmt der Kristall mit dem Ergosterin gut überein. Diese Substanz von 0.2 g wurde den Fistelhunden mit der Nahrung gegeben, um ihren Einfluss auf die Gallen- und Gallensäureausscheidung zu beobachten. Die Versuche 5 und 6 der Tabelle 3 zeigen, dass die Zunahme der Gallenausscheidung 52.3 - 58.9% und die der Gallensäureausscheidung 52.7 - 62.97% beträgt.

Aus den oben erwähnten Daten erhellt, dass im alkoholischen Extrakte aus Shiitake eine die Gallen- und Gallensäureausscheidung fördernde Substanz, Ergosterin, enthalten und dass die choleretische Wirkung von Shiitake hauptsächlich durch das Ergosterin in Shiitake bedingt ist.

Tabelle 3.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge (cc)	Spez. Gewicht	Aminostickstoff (mg)	Aminostickstoff		Thurocholsäure (mg)	Bemerkungen
				in 1 cc Galle (mg)	in 6 Stunden (mg)		
24/Febr.	45	1022	0.29	0.401	18.05	662.79	
25	47	1021	0.30	0.377	17.72	650.63	
26	40	1021	0.28	0.352	14.08	517.18	
27	33	1020	0.30	0.340	11.22	411.99	
28	30	1019	0.31	0.331	9.93	364.63	
1/März	21	1016	0.32	0.421	8.84	324.60	← unverseifbarer Anteil (0.2 g)
2	20	1015	0.31	0.415	8.30	304.77	

Versuch 2.

25/Febr.	71	1016	0.33	0.220	15.62	573.57	
26	56	1015	0.34	0.292	16.35	600.37	
27	52	1015	0.32	0.263	13.67	502.33	
28	45	1014	0.33	0.251	11.30	414.94	
1/März	40	1013	0.34	0.265	10.60	389.23	
2	33	1012	0.29	0.332	10.96	402.45	← unverseifbarer Anteil (0.2 g)
3	29	1014	0.31	0.248	7.22	258.12	

Versuch 3.

13/März	25	1019	0.19	0.412	10.30	378.22	
14	26	1019	0.20	0.201	5.23	192.05	
15	20	1018	0.21	0.184	3.68	135.13	
16	14	1017	0.18	0.133	1.86	68.30	
17	13	1019	0.17	0.165	2.97	108.86	← unverseifbarer Anteil (0.5 g)
18	21	1016	0.19	0.130	2.73	100.25	
19	12	1015	0.18	0.129	1.55	56.92	

Versuch 4.

13/März	40	1013	0.27	0.435	17.40	638.93	
14	21	1014	0.29	0.541	11.36	417.14	
15	14	1012	0.29	0.490	10.29	377.85	
16	20	1013	0.28	0.432	8.64	317.27	
17	17	1013	0.27	0.323	5.49	201.60	
18	25	1012	0.26	0.350	8.75	311.30	← unverseifbarer Anteil (0.5 g)
19	19	1011	0.29	0.301	5.72	210.04	

Versuch 5.

Datum	Ausgeschied. Gallen- menge (cc)	Spez. Gewicht	Amino- stick- stoff (mg)	Aminostickstoff		Taur- cholsäure (mg)	Bemerkungen
				in 1 cc Galle (mg)	in 6 Stunden (mg)		
13/März	31	1014	0.23	0.291	9.02	331.22	
14	34	1015	0.21	0.256	8.71	319.83	
15	24	1013	0.27	0.302	7.25	266.22	
16	17	1012	0.25	0.264	4.49	164.84	Ergosterin aus unverseifbarem Anteile (0.2 g)
17	27	1013	0.25	0.270	7.29	267.69	
18	10	1015	0.28	0.285	2.85	104.65	

Versuch 6.

16/März	63	1019	0.34	0.221	13.92	510.94	
17	58	1018	0.30	0.214	12.41	455.70	
18	50	1017	0.32	0.233	11.65	427.79	
19	42	1017	0.32	0.218	9.16	336.36	
20	34	1016	0.29	0.196	6.67	245.92	Ergosterin aus unverseifbarem Anteile (0.2 g)
21	52	1015	0.30	0.196	10.19	374.18	
22	29	1016	0.34	0.166	4.82	176.99	

Literatur.

Fukase, T. und *Fuziwara, K.*, noch nicht veröffentlicht, 1931. — *Higashi, S.*, Arb. u. d. Med. Univ. Okayama 1, 583, 1930. — *Higashi, S.*, ebenda 2, 398, 1931. — *Sumi, M.*, Proc. of Imp. Acad. Tokyo 4, 116, 1928. — *Sumi, M.*, Bull. of Physic. u. Chem. Research 7, 795, 1928. — *Sumi, M.*, ebenda 8, 1040, 1929. — *Wieland, H.* und *Weil, F. J.*, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 80, 287, 1912. — *Windaus, A.*, Ber. d. deut. chem. Gesellschaft 52, 1915, 1919. — *Yoshimura, K.* und *Kanai, M.*, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 86, 178, 1903.