

Beiträge zur Kenntnis der stickstoffhaltigen Bestandteile der Pilze.

Von

Camille Reuter (Luxemburg).

Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen
Hochschule in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 13. März 1912.)

Einleitung.

Die vorliegende Arbeit bildet eine Fortsetzung der im hiesigen Institute von E. Winterstein und seinen Schülern ausgeführten Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Pilze.

Eine eigene Stellung in der Pflanzenwelt nehmen die in vieler Hinsicht so merkwürdigen Pilze ein. Die für das Pflanzenreich charakteristische Cellulose fehlt bei allen daraufhin untersuchten Arten völlig. Dafür enthalten sie aber reichlich Chitin, welches man früher als ausschließlich dem Tierreiche zugehörig betrachtete. Auch Harnstoff wurde in den Pilzen aufgefunden. Chlorophyll wurde bei keiner Art konstatiert, und im Zusammenhang damit steht auch das Fehlen der pflanzlichen Stärke. Ihre Rolle als Reservekohlenhydrat übernimmt, wie im tierischen Organismus, das Glykogen. Alle diese interessanten Tatsachen rücken die Pilze in bezug auf ihre chemische Zusammensetzung dem Tierreiche näher, und sie bilden in neuerer Zeit den Gegenstand emsiger Forschungen. Über die in ihnen vorkommenden Zuckerarten besitzen wir die sorgfältigen Arbeiten von E. Bourquelot.¹⁾ Die Untersuchungen von E. Winterstein²⁾ und von

¹⁾ Bull. soc. mycologique de France, Bd. 5—9 (1889—93).

²⁾ B. B., Bd. 27, S. 3113 (1894).

Gilson¹⁾ zeigten, daß die sogenannte «Pilzcellulose» größtenteils aus Chitin besteht. Die amorphen Kohlenhydrate der Pilze sind von vielen Forschern untersucht worden, jedoch nicht ganz mit dem gewünschten Erfolg. Es ist ja nicht abzusehen, welchen Veränderungen diese Körper bei ihrer Darstellung unterliegen, und außerdem besitzen wir bei ihrer amorphen Natur keine genügenden Kriterien für die Reinheit der Präparate. Errera²⁾ und Clautriau³⁾ studierten das Vorkommen und die Rolle des Glykogens in den Pilzen. Boudier⁴⁾ untersuchte ein wasserlösliches, amorphes Kohlenhydrat, das aber nach Zellner Stickstoff und anorganische Substanzen enthält. Auch Hofmann⁵⁾ arbeitete mit diesem Boudierschen «Viskosing», anscheinend aber ohne von den Arbeiten Boudiers Kenntnis zu haben. Zur Klasse der Hemicellulosen gehörige Körper stellte Winterstein⁶⁾ als Paradextran und Paraisodextran dar. Ähnliche Kohlenhydrate wurden von Mangin,⁷⁾ Tanret⁸⁾ als Kallose resp. Fongose beschrieben. Die zahlreichen anderen Beobachtungen finden sich in einer Monographie J. Zellners⁹⁾ zusammengestellt.

Da die vorliegende Abhandlung sich speziell mit den stickstoffhaltigen Bestandteilen von *Boletus edulis* Bull., Stein- oder Herrenpilz befaßt, so will ich im folgenden eine Zusammenstellung der Arbeiten über die N-haltigen Substanzen der höheren Pilze geben.

Die Eiweißkörper.

Auf die Arbeiten über die Eiweißstoffe niederer Pilze, Bakterien und Bazillen möchte ich nur kurz hinweisen. Die

¹⁾ B. B., Bd. 28, S. 821 (1895).

²⁾ L'épithélium des ascomycètes et le glycogène des végétaux. Thèse. Bruxelles 1882.

³⁾ Etude chimique du glycogène chez les champignons et les levures. Bruxelles, 1895.

⁴⁾ Die Pilze, 1867, S. 48.

⁵⁾ Dissertation Zürich, 1901.

⁶⁾ B. B., Bd. 26, S. 3098. — Diese Zeitschrift, Bd. 21, S. 149.

⁷⁾ C. r., Bd. 17, S. 616 (1893).

⁸⁾ Bull. soc. chim., Bd. 17, S. 921.

⁹⁾ Chemie der höheren Pilze, Leipzig, 1907.

einschlägige Literatur findet sich in der Dissertation von Hofmann¹⁾ und bei Czapek²⁾ zusammengestellt.

Braconnot³⁾ machte zuerst auf den Gehalt der Pilze an Eiweißkörpern aufmerksam. De Bary⁴⁾ wies auf den Eiweißgehalt des Aethaliumprotoplasmas hin. Die ersten Versuche zur Isolierung von Eiweißkörpern wurden von Reinke und Rodewald⁵⁾ an der Lohblüte, *Aethalium septicum*, vorgenommen. Sie fanden «Myosin» und «Vitellin». Den in verdünnten Säuren und Laugen unlöslichen Rückstand nannten sie «Plastin» und halten ihn für einen außergewöhnlich N-armen Eiweißkörper (11,9% N), oder aber für eine Verbindung eines Eiweißkörpers mit einer organischen Phosphorverbindung. Weitere Angaben über diesen Körper machten Löw⁶⁾ und Zacharias.⁷⁾ Diese Autoren berücksichtigten natürlich das damals noch nicht in den Pilzen aufgefundene Chitin nicht, und ihre Plastinpräparate stellten somit wahrscheinlich Gemenge von Chitin mit schwer löslichem Pilzeiweiß und vielleicht amorphen Kohlenhydraten dar. Im Bleiessigniederschlag des wässrigen Protoplasmaauszuges findet sich nach Reinke und Rodewald eine amorphe Substanz, welche die Millonsche Reaktion zeigte und die sie für ein Pepton halten.

Uffelmann⁸⁾ untersuchte einige höhere Pilze und unterschied nach den Fällungsreaktionen koagulierbares Albumin, Legumin und ein Pepton. Die ersten genauen Untersuchungen über die Eiweißkörper der höheren Pilze rühren von Winterstein und Hofmann her.⁹⁾ In diesen Arbeiten wurde ge-

¹⁾ Dissert. Zürich, 1901, S. 18 ff.

²⁾ Biochemie der Pflanzen, II, S. 74 ff.

³⁾ Ann. de Chimie. 1811, Bd. 80, S. 283. — Vgl. auch Vauquelin, ibid., Bd. 85.

⁴⁾ Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Mykomyeten, Leipzig. 1866, S. 295.

⁵⁾ Untersuch. aus dem bot. Labor. d. Universität Göttingen. 1881.

⁶⁾ Botan. Ztg., 1884, S. 113.

⁷⁾ Ibid., 1887, S. 281.

⁸⁾ Archiv f. Hygiene, Bd. 6, S. 105. — C., 1887, S. 370.

⁹⁾ Winterstein, Diese Zeitschrift, Bd. 26, S. 438.

Winterstein und Hofmann, Hofmeisters Beitr., Bd. 2, S. 404.
Hofmann, Dissertation Zürich, 1901.

zeigt, daß die Pilzproteide im Gegensatz zu den Samenproteiden schwer löslich sind. Extrahiert man jedoch entfettetes und mit Wasser erschöpftes Pilzmaterial mit wässriger Alkalilauge, so gelingt es wohl, beträchtliche Mengen N-haltiger Substanz in Lösung zu bringen, aber wenn man nun diese Lösung mit Säure neutralisiert, tritt nur eine geringe Fällung auf. Zu ähnlichen Resultaten gelangten auch Santesson und Cederlöw¹⁾ bei *Secale cornutum*. Nachdem es Hofmann nicht gelungen war, durch Extraktion mit Lauge größere Quantitäten von Pilzeiweiß zu erhalten, gewann er es, wenn auch nicht in der ursprünglichen Form, durch kurzes Behandeln mit konzentrierter Salzsäure und Ausfällen des Extraktes mit Phosphorwolframsäure. Durch Zerlegen des Niederschlages erhielt er es in wasserlöslicher Form. Hofmann untersuchte ferner die Abbauprodukte, welche bei der Hydrolyse dieses Eiweißpräparates entstehen. Die Estermethode E. Fischers zur Isolierung der dabei entstehenden Aminosäuren war damals noch nicht bekannt, und so begnügte sich Hofmann, die bei der Spaltung entstehenden sogenannten Hexonbasen zu isolieren. Er fand 6,3% Histidin, 10,7% Arginin und 6,3% Lysin. Es sei hier darauf hingewiesen, daß ein solcher Reichtum an basischen Spaltungsprodukten sich sonst nur bei den Histonen, z. B. dem Globin des Blutes findet. Qualitativ wurden von Monoaminosäuren Leucin und Tyrosin nachgewiesen. Auch durch künstliche peptische Verdauung gelang es Hofmann, Körper mit Proteincharakter in Lösung zu bringen.

Kurz nach diesen Untersuchungen erschien eine Arbeit von Iwanoff²⁾ über die Zusammensetzung der Eiweißstoffe und Zellmembranen der Bakterien und Pilze. In Anlehnung an das Schmiedeberg-Krawkowsche Verfahren digerierte er das entfettete Pilzpulver mit einer gesättigten Kupferacetatlösung und setzte Kalilauge bis zum Eintreten der Biuretreaktion zu. Aus dem Filtrat wurde das Eiweiß durch Essigsäure gefällt. Das auf diese Weise aus *Boletus edulis* erhaltene Präparat stellte ein rötlichbraunes Pulver dar, unlöslich in Wasser, Salz-

¹⁾ Skandinav. Arch. f. Physiol., Bd. 11, S. 342.

²⁾ Hofmeisters Beitr., Bd. 1, S. 524. — C., 1902, S. 531.

lösungen, verdünnten Säuren, leichtlöslich in verdünnten Laugen. Ammoniak, auch in konzentrierten Säuren. Leider gibt Iwanoff keine Ausbeute an dem so gewonnenen Eiweißkörper an, der 15,74% N und 1,08% P enthielt. Iwanoff spricht ihn als ein Nucleoproteid an und beobachtete toxische Wirkungen nach der Injektion. Wenn es auch wahrscheinlich ist, daß ein Nucleoproteid vorliegt, so müssen, um diese Annahme zu beweisen, Purinbasen aus dem Nucleinsäurepaarling gewonnen werden.

Im Anschluß an diese Publikation teilen Winterstein und Hofmann¹⁾ mit, daß sie, durch Digerieren des mit Äther und Wasser erschöpften Pilzmaterials mit verdünnter Natronlauge und Zusatz von Jodquecksilberjodkali und Essigsäure, eine Substanz erhielten, welche 14,4% N enthielt, außerdem S und P. Auch durch Behandlung mit Nesslerischem Reagens und Neutralisation mit Essigsäure gelangten sie zu demselben Körper. Beim Digerieren dieser Präparate mit Salzsäure entstanden reduzierend wirkende Lösungen. Im Hinblick auf das Vorhandensein amorpher alkalilöslicher Kohlenhydrate halten die Autoren es für möglich, daß ihre Präparate Gemische darstellen.

Nach Zellner²⁾ findet sich im Wasserextrakt des Fliegenpilzes in geringer Menge ein koagulierbares Albumin. Auch 10%ige Kochsalzlösung soll Eiweiß in Lösung bringen. Durch Digerieren mit verdünnter Lauge und Fällern mit Säure erhielt er ebenfalls nur sehr geringe Mengen Eiweiß.

Proteolytische Fermente, peptonisierende und erepsinähnliche wurden des öfteren in Pilzen nachgewiesen. In bezug auf die Literaturzusammenstellung verweise ich wiederum auf die Werke von Czapek und Zellner.

Anschließend wäre noch ein toxinähnlicher Körper zu erwähnen, die «Mykozymase», welche von Dupetit³⁾ im Steinpilz und auch in anderen Hutpilzen aufgefunden wurde. Sie wirkt subcutan injiziert tödlich und wird durch Hitze unwirksam.

¹⁾ Hofmeisters Beitr., Bd. 2, S. 408.

²⁾ Monatsh. f. Ch., 1906, S. 112.

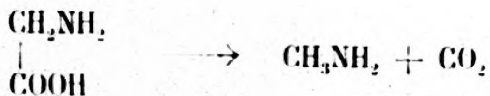
³⁾ C. r., Bd. 95, S. 1367. — C., 1889, I, S. 695.

Nährwert der Pilze.

Über diese Frage finden sich in der Literatur die widersprechendsten Ansichten. Der beträchtliche Stickstoffgehalt veranlaßte die älteren Nahrungsmittelchemiker, ihren Nährwert sehr hoch zu veranschlagen, und es hat nicht an Autoren gefehlt, welche sie als Ersatz für die Fleischkost empfahlen; sowie man aber begann, Verdauungsversuche anzustellen, änderte sich diese Ansicht. Saltet,¹⁾ Strohmeyer,²⁾ Uffelmann³⁾ und Mörner⁴⁾ gelangten zum Schlusse, daß ein sehr beträchtlicher Teil des Pilzeiweißes in unverdaulicher Form vorliegt. Diese Auffassung mag zum Teil wohl davon herrühren, daß diese Autoren den damals noch nicht bekannten Chitingehalt unberücksichtigt ließen und diesen Stickstoff als unverdauliches Eiweiß in Rechnung brachten. Nach meinen Versuchen läßt sich das Eiweiß durch Trypsinferment leicht in Lösung bringen.

Basen.

Die basischen Körper der Pilze verdienen große Beachtung wegen der physiologischen Wirksamkeit einiger Glieder dieser Gruppe, dann auch als Stoffwechselendprodukte. Viele von ihnen kann man sich von den Aminosäuren durch CO_2 -Abspaltung herleiten; und dieser Abbauprozess findet auch in der Tat bei der Fäulnis fast aller Aminosäuren statt. Es liegen hierüber besonders die Arbeiten von Ellinger, sowie von Ackermann vor. So könnte man sich das im Mutterkorn⁵⁾ und Polyporus officinalis⁶⁾ aufgefundene Methylamin aus Glykokoll entstanden denken:



¹⁾ Archiv f. Hygiene, Bd. 3, S. 443.

²⁾ Ibid., Bd. 5, S. 322.

³⁾ Ibid., Bd. 6, S. 105.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 503.

⁵⁾ Ludwig, Arch. d. Pharmacie, Bd. 164, S. 196; Bd. 187, S. 36.

⁶⁾ Schmieder, Dissertation Erlangen, 1886.

Das von Barger und Dale¹⁾ im Mutterkorn aufgefundene Isoamylamin würde in analoger Weise aus Leucin entstehen, während das physiologisch wirksame p-Oxyphenyläthylamin des Mutterkorns sich vom Tyrosin ableiten würde.

Neuerdings wurde eine weitere Base mit physiologischen Eigenschaften von Barger und Dale²⁾ aus dem Mutterkorn isoliert, das Imidazolyläthylamin, das durch CO₂-Abspaltung aus Histidin entstanden sein kann. Auch Putrescin und Cadaverin, aus Ornithin, resp. Lysin gebildet, treten nach Rieländer³⁾ im Mutterkorn auf. Endlich fanden Engeland und Kutscher⁴⁾ in demselben Material Agmatin, welches sich durch CO₂-Abspaltung aus Arginin herleitet.

Methylamin. Es soll nach Ludwig⁵⁾ präformiert im Mutterkorn vorkommen, was jedoch von Ganser⁶⁾ und Manassewicz⁷⁾ bestritten wird. Nach Tanret⁸⁾ entsteht es bei der Zersetzung des Ergotinins mit kohlensauren Alkalien, und bei Zellner⁹⁾ findet sich die Bemerkung, daß es von Dragendorff im Mutterkorn, das längere Zeit gelegen hat, aufgefunden und daraus durch Destillation mit Lauge gewonnen wurde. Diese Art der Darstellung schließt allerdings eine sekundäre Bildung durch Zersetzung nicht aus. Aus *Polyporus officinalis* erhielt es Schmieder durch Destillation mit Kalkmilch.

Trimethylamin. Aus dem frischen Fliegenpilz gewannen Kußmaul und Borntträger¹⁰⁾ durch Destillation mit Lauge eine Base, die jedenfalls Trimethylamin war. Walz¹¹⁾ fand es im

1) Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. 61, S. 113.
Journ. Chem. Soc. London, Bd. 95, S. 1123.

2) Journ. Chem. Soc. London, Bd. 97, S. 2592.

3) Sitzungsber. d. Ges. f. Bef. d. Naturw., Marburg, 1908, Nr. 7.

4) Zentralbl. f. Physiol., Bd. 24, S. 479 u. 589.

5) l. c.

6) Arch. d. Pharm., Bd. 194, S. 195.

7) Pharmaceut. Zeitschr. f. Rußland, Bd. VI, S. 387 (Referat).

8) C., 1876, S. 21; 1877, S. 710.

9) Chemie der höheren Pilze, Leipzig, 1907, S. 57.

10) Neues Jahrbuch d. Pharmacie, Bd. 24, S. 242.

Verhandl. d. naturhist. Vereins zu Heidelberg, Bd. 1, S. 13.

11) Jahrbuch d. Pharmacie, Bd. 24, S. 242.

Mutterkorn, jedoch werden seine Angaben von Ganser¹⁾ bestritten. Wenzell²⁾ hielt den Körper für Propylamin. Nach Dragendorff³⁾ bildet es sich erst sekundär beim Lagern des Mutterkornes aus komplizierter aufgebauten Stickstoffverbindungen. In *Ustilago Maidis* Tul. sollen beträchtliche Mengen Trimethylamin enthalten sein. Trimethylamin wurde von Yoshimura (cf. S. 179) in der Argininfällung des Wasserextraktes aus *Boletus edulis* gefunden. Argininkupferniträt konnte nicht erhalten werden. Yoshimura nimmt an, daß das Trimethylamin durch Zersetzung aus

Cholin entstanden ist. Letzteres konnte er nicht auffinden. In einer Arbeit von Polstorff⁴⁾ wird die Gewinnung von Cholin aus *Boletus edulis* beschrieben. Daneben soll sich noch eine geringe Menge einer andern Base, die nicht weiter untersucht wurde, finden. Bei dieser Darstellungsweise (Erwärmen mit Säure) wird jedenfalls das Lecithin gespalten, sodaß das aufgefundenene Cholin sehr wohl wenigstens teilweise aus dem Lecithin herrühren kann. Daß das Lecithin aus Steinpilz Cholin liefert, wurde von E. Schulze⁵⁾ nachgewiesen. Schmiedeberg und Harnack fanden das Cholin zuerst im Fliegenpilz und nannten es Amanitin, da sie es damals für ein Cholinhomologes hielten. Ferner wurde es von Böhm⁶⁾ in *Boletus luridus* und *Amanita pantherina*, von Böhm und Külz⁷⁾ in *Helvella esculenta*, von Brieger⁸⁾ und Krafft⁹⁾ im Mutterkorn, von Kobert¹⁰⁾ in *Russula emetica*, von Utz¹¹⁾ in *Boletus satanas* und neuerdings von Kutscher (l. c.) in einem Champignonpräparat «*Hercynia*» aufgefunden.

¹⁾ Arch. d. Pharmacie, Bd. 194, S. 195 (1870).

²⁾ Americ. Journ. of Pharmac., 1864, S. 193.

³⁾ Arch. d. Pharmacie, Bd. 200, S. 256 (1872).

⁴⁾ Wallach, Festschrift, S. 579—83. — C., 1909, Bd. 2, S. 2015.

⁵⁾ Landw. Versuchszt., 1896, Bd. 46, S. 23.

⁶⁾ Arch. f. exp. Pathol., Bd. 19, S. 159. — C., 1885, S. 250.

⁷⁾ Arch. f. exp. Pathol., Bd. 19, S. 87.

⁸⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 184.

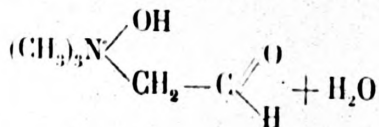
⁹⁾ Arch. d. Pharmacie, Bd. 244, S. 336. — C., 1906, Bd. 2, S. 1573.

¹⁰⁾ C., 1892, Bd. 2, S. 929.

¹¹⁾ Apoth.-Ztg., Bd. 20, S. 993. — C., 1906, Bd. 1, S. 252.

Muscarin. Die giftige Base des Fliegenpilzes wurde von Schmiedeberg und Koppe¹⁾ zuerst aus diesem Pilz isoliert und beschrieben.

Honda²⁾ will das Muscarin des Fliegenpilzes aus dem Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung neben Cholin isoliert haben. Analysen fehlen. Die Phosphorwolframsäurefällung enthielt ein Basengemisch, das Honda mit dem Namen «Myketosine» bezeichnet. Das Vorkommen vom Muscarin ist wohl nicht auf den Fliegenpilz beschränkt. Auch *Boletus luridus* Schaef. und *Amanita pantherina* D. C. enthalten nach Böhm³⁾ eine giftige Base, die die Eigenschaften des Muscarins besitzt und sehr wahrscheinlich mit ihm identisch ist. Die angewandten Methoden zur Darstellung des Pilzmuscarins bieten keine Gewähr für die Reinheit der Präparate, und so erklären sich auch die recht verschiedenen Angaben der einzelnen Forscher aus der Schwierigkeit, Muscarin in reinem Zustande zu isolieren. Die Konstitution des natürlichen Muscarins ist noch nicht mit Sicherheit festgestellt. Harnack⁴⁾ fand, daß sich beim Erhitzen des Muscarins Trimethylamin bildet. Aus der Analyse ging hervor, daß es ein Sauerstoffatom mehr als das Cholin enthält, also wahrscheinlich ein Oxydationsprodukt desselben ist, und die Formel



besitzt.

Es wäre also der dem Cholin entsprechende Aldehyd. Diese Oxydation gelingt nach Schmiedeberg und Harnack⁵⁾ mittels starker Salpetersäure. Das erhaltene Oxydationsprodukt soll chemisch dem Pilzmuscarin sehr ähnlich sein, nur besteht eine Verschiedenheit in bezug auf die physiologischen Eigenschaften (stärkere curareartige Wirkung des Cholinmuscarins). Auch die von Berlinerblau⁶⁾ durch Erhitzen von Tri-

¹⁾ Das Muscarin, Leipzig, 1869.

²⁾ Arch. f. exp. Pathol., Bd. 65, S. 454 (1911).

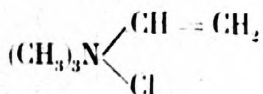
³⁾ Arch. f. exp. Pathol., Bd. 19, S. 159. — C., 1885, S. 250.

⁴⁾ Arch. f. exp. Pathol., Bd. 4, S. 82.

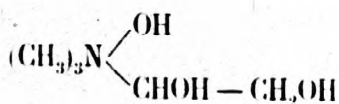
⁵⁾ Archiv f. exp. Pathol., Bd. 6, S. 101. — C., 1875, S. 629.

⁶⁾ B. B., Bd. 17, S. 1139 (1884).

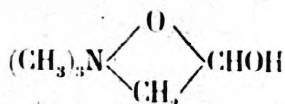
methylamin mit Monochloracetal und nachfolgende Verseifung erhaltene Muscarinbase zeigt vom natürlichen Muscarin verschiedene physiologische Eigenschaften (Myose der Vogelpupille). Bode¹⁾ stellte durch Einwirkung von unterchloriger Säure auf Trimethylvinylammoniumchlorid



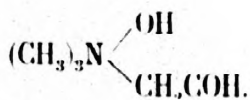
und Behandlung des Reaktionsproduktes mit Silberoxyd einen Körper von der Elementarzusammensetzung des Muscarins dar, der die Formel



besitzt und in toxikologischer Hinsicht sich von dem auf anderem Wege dargestellten synthetischen Muscarin, sowohl wie vom natürlichen bedeutend unterscheidet (Blutdrucksteigerung). Fischer²⁾ erhielt aus Jodmethyl und Acetalamin durch Verseifung mit Salzsäure einen Körper, der mit der Base von Berlinerblau identisch ist.³⁾ Wegen ihrer bei Aldehyden ungewöhnlichen Beständigkeit gegen Alkalien hält Fischer die Formel



für wahrscheinlicher als



Nothnagel⁴⁾ hat diese Muscarinbasen vergleichend untersucht und ihre physiologischen Eigenschaften mit denen des natürlichen Muscarins verglichen. Keiner der bisher dargestellten Körper ist mit dem Pilzmuscarin identisch. Durch Reduktion

¹⁾ Bode, Liebigs Annal., Bd. 267, S. 291.

²⁾ E. Fischer, B. B., Bd. 26, S. 468.

³⁾ E. Fischer, B. B., Bd. 27, S. 166.

⁴⁾ Nothnagel, B. B., Bd. 26, S. 801.

des Betainchlorhydrates mit Natriumamalgam bei schwach alkalischer Reaktion erhielt er eine Base, die dem Muscarin ebenfalls äußerst ähnlich ist. Da sich noch keine Angabe über die optische Aktivität des Pilzmuscarins findet, stellt Zellner in seinem Handbuch¹⁾ die Vermutung auf, daß das natürliche Muscarin eine der beiden optisch aktiven Formen der einen oder andern der synthetisch erhaltenen Körper darstellt.

Betain findet sich im Mutterkorn²⁾ und wurde neuerdings von Kutscher in einem Champignonpräparat «*Hercynia*» nachgewiesen.

Neurin wurde nach einer Angabe Hofmanns im Fliegenpilz gefunden. Es findet sich darüber kein Literaturnachweis und dürfte diese Angabe wohl auf einer Verwechslung mit dem früher auch Neurin genannten Cholin beruhen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß neben den bisher aufgefundenen Basen noch eine ganze Reihe ihrer Entdeckung harren. Einige basische Körper, die noch sehr weiterer Untersuchung bedürftig sind, sollen hier Erwähnung finden.

Agarythrin. Phipson³⁾ beschreibt eine Agarythrin genannte Base, die er aus *Russula rubra* DC. gewann. Der frische Pilz wurde mit 8%iger HCl einige Tage maceriert und der Extrakt mit Äther ausgeschüttelt. Das Sulfat soll in Wasser unlöslich, in Alkohol löslich sein. Salpetersäure löst den Körper mit rosenroter Farbe.

Bulbosin. Aus *Amanita phalloides* Fr., dem Knollenblätterschwamm, isolierte Boudier⁴⁾ einen Giftstoff, Bulbosin genannt, durch Fällen des Pilzsaftes mit Alkohol, Reinigen des vom Alkohol befreiten Filtrates mit Bleiessig, Entbleien, Eindunsten, wiederholtes Aufnehmen mit absolutem Alkohol und Eindunsten. Der Körper ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, fällbar durch Quecksilberjodidjodkalium, Jodjodkalium, Tannin. Näher wurde der Körper, der sehr wahrscheinlich ein Gemisch darstellt, nicht untersucht.

¹⁾ Chemie der höheren Pilze, Leipzig, 1907.

²⁾ Krafft, Arch. d. Pharmacie, Bd. 244, S. 336. — C., 1897, S. 817.

³⁾ Chem. News, Bd. 46, S. 199. — C., 1882, S. 803.

⁴⁾ Boudier, Die Pilze, 1867, S. 43 ff.

Boletin. Utz¹⁾ isolierte aus *Boletus satanas* nach dem von E. Schmidt angegebenen Verfahren zur Gewinnung des Muscarins einen Körper, fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und verdünnten Säuren. Tannin und Jodjodkali geben keine Fällung, Goldchlorid und Quecksilberjodidjodkali geringe Trübung, Platinchlorid und Nesslerisches Reagens hingegen starke krystallinische Niederschläge.

Aus Knollenblätterpilz stellten Letellier und Speneux²⁾ einen «narkotischen» Körper dar, welchen sie Amanitin nannten und den sie weiter als glykosidisches Alkaloid bezeichnen, weil nach Kochen mit verdünnter Schwefelsäure die erhaltene Lösung reduzierende Eigenschaften besitzt. Er gibt keine schwer löslichen Hg-, Ag-, Pb- und Au-Salze, wird aber durch Jodjodkalium, phosphormolybdänsaures Natrium und Gerbsäure gefällt.

Auf die Beschreibung der zahlreichen aus dem Mutterkorn dargestellten Körper kann hier nicht eingegangen werden. Diejenigen, deren Konstitution sicher festgestellt ist, sind bereits erwähnt worden.

Nur das Ergothionin soll noch genannt werden, das von Tanret³⁾ im Mutterkorn aufgefunden wurde, und dem nach der Untersuchung von Barger und Ewins⁴⁾ die Konstitution eines β -2-Thioglyoxalin-4- (oder 5-) propionsäurebetains zukommt, also eines Thiohistidinbetains.

Aminosäuren.

A. Monoaminosäuren.

Diese für den Eiweißstoffwechsel wichtigen Verbindungen sind nur in wenigen Fällen aufgefunden worden.

Ludwig⁵⁾ fand Leucin im alkoholischen Extrakt des Fliegenpilzes. Buchheim⁶⁾ isolierte dieselbe Substanz aus Mutterkorn. An dieser Stelle sei auch das sogenannte Clavin

¹⁾ Apotheker-Ztg., Bd. 20, S. 993. -- C., 1906, Bd. 1, S. 252.

²⁾ Letellier und Speneux, Ann. d'hygiène, 1867, S. 71.

³⁾ Journ. Pharm. Chim., Bd. 30, S. 145.

⁴⁾ Chem. Soc. London, 1911, Bd. 99, S. 2336.

⁵⁾ Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie, 1862, S. 516.

⁶⁾ Arch. d. Pharm., Bd. 207, S. 32 (1875).

erwähnt, das nach Vahlen¹⁾ ein Salz von Leucin mit einer physiologisch wirksamen Base ist, während Barger und Dale²⁾ es für ein unwirksames Gemenge von Aminosäuren, hauptsächlich Leucin und wenig Asparaginsäure halten. Winterstein hat in dem Merkurinitratniederschlag aus dem Wasserextrakt von *Boletus edulis* einen krystallisierenden Körper isoliert, welcher das Verhalten der Aminosäuren zeigte. Den Untersuchungen von Bourquelot und Bertrand³⁾ gelang es, zu zeigen, daß die chromogene Substanz der *Russula nigricans* Bull. Tyrosin ist,⁴⁾ das vermittelst einer Oxydase, der Tyrosinase, die bekannte dunkle Färbung der genannten Pilze bewirkt. Im frischen *Lycoperdon Bovista* L. fanden Bamberger und Landsiedl⁵⁾ Tyrosin. Asparagin und Glutamin finden sich nach Reinke und Rodewald⁶⁾ im *Aethalium septicum*.

B. Diaminosäuren.

Histidin findet sich nach Yoshimura⁷⁾ im Wasserextrakt von *Boletus edulis* und wurde durch eine Pikrinsäurebestimmung identifiziert. Kutscher fand Arginin in dem Hercyniapräparat, welches die wasserlöslichen Extraktivstoffe des Champignons enthält. Das gleiche Präparat enthielt eine als Aurat analysierte Base $C_9H_{15}N_3O_2$, welche die Diazoreaktion in starker Weise zeigt. Hingegen sind Millonsche-, sowie Tryptophanreaktion negativ. Analyse und Reaktionen scheinen auf eine Base mit Imidazolring zu deuten, vielleicht ein trimethyliertes Histidin.⁸⁾

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 60, S. 42, 1908. — C., 1909, Bd. 1, S. 556.

²⁾ Journ. of Phys., Bd. 34 (1906), S. 336. — Arch. d. Pharm., Bd. 244, S. 550. — Biochemical Journ., 1907, Bd. 2, S. 240. — Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 61, S. 113. — C., 1909, Bd. 2, S. 1761.

³⁾ Bull. soc. myc. de France, Bd. 11, S. 39; Bd. 12, S. 31.

⁴⁾ Bull. soc. chim. (3), Bd. 15, S. 793.

⁵⁾ Monatshefte f. Chemie, 1903, S. 644.

⁶⁾ Untersuch. aus d. bot. Labor. d. Universität Göttingen, 1881, S. 32 ff.

⁷⁾ Z. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel, Bd. 20, S. 153 (1910).

⁸⁾ Kutscher, Zentralbl. f. Physiologie, Bd. 24, S. 775 (1910). — C., 1911, Bd. 1, S. 497. — Z. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel, Bd. 21, S. 535 (1911).

Harnstoff und Purinkörper.

Der Harnstoff, ein spezifisches Abbauprodukt des tierischen Organismus, ist bemerkenswerterweise auch bei den Pilzen, und zwar zuerst im *Lycoperdon Bovista* L. durch Bamberger und Landsiedl¹⁾ aufgefunden worden. Aus dem alkoholischen Extrakte des Pilzes krystallisierte der Harnstoff aus und konnte durch Analyse und Reaktionen leicht identifiziert werden. In Pilzen von verschiedenen Fundorten wurde jedesmal Harnstoff und zwar bis zu 3,5% gefunden, so daß die Hypothese einer bloß zufälligen Verunreinigung durch tierische Exkremente fallen muß. R. Gaze²⁾ fand auch im unreifen Bovist Harnstoff, und auch im *Lycoperdon gemmatum* Batsch. ist dieser Körper vorhanden.³⁾ Goris und Maseré⁴⁾ fanden Harnstoff in *Tricholoma Georgii* Fr., *Psalliota campestris* jung (2,75%). Im reifen Zustande enthält derselbe Pilz 4,30%. In kultivierten Champignons wurde kein Harnstoff gefunden, ebensowenig in *Tricholoma pessundatum* Fr., *Tricholoma album* Sch., *Lepiota procera* Scop., *Lactarius piperatus* Scop., *Collybia maculata* Alb. et Sch., *Coprinus comatus* Fl. und *Psalliota xantheroderma*.

Das Vorkommen von Purinbasen verdient Beachtung wegen ihrer Beziehungen zum Nucleinstoffwechsel. Kossel⁵⁾ zeigte, daß sie in der Hefenucleinsäure enthalten sind, und nannte sie Nucleinbasen. Die höheren Pilze sind daraufhin erst wenig untersucht. Aus der Bleiessigfällung des Wasserextraktes aus *Amanita muscaria* gewann Zellner⁶⁾ einen Körper, der beim Eindunsten mit Salpetersäure einen gelben Rückstand gibt, welcher sich mit NH_3 nicht verändert, aber mit Kalilauge eine gelbrote Färbung zeigt. Eine Analyse konnte wegen Mangel an Substanz nicht ausgeführt werden, doch hält Zellner den Körper für Xanthin.

¹⁾ Monatsh. f. Chem., 1903, S. 63.

²⁾ Arch. d. Pharm., 1905, S. 79.

³⁾ cf. Zellner, Chemie der höheren Pilze, S. 54.

⁴⁾ C. r., Bd. 147, S. 1488.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 284; Bd. 4, S. 290; Bd. 5, S. 267; Bd. 6, S. 422. — B. B., Bd. 18, S. 1928.

⁶⁾ Monatsh. f. Chem., 1906, S. 116.

Aus dem Alkoholextrakt von *Boletus edulis* gelang es Winterstein,¹⁾ kleine Mengen einer Substanz zu isolieren, welche das Verhalten der Purinkörper zeigte. Einen ähnlichen Körper fanden Bamberger und Landsiedl²⁾ im Merkurinitratniederschlag des mit Bleiessig gereinigten Extraktes von *Lycoperdon Bovista*. Die Substanz krystallisierte aus Wasser in feinen, seidenglänzenden Nadelchen. Mit Salpetersäure abgedunstet, bleibt ein citronengelber Rückstand, der sich mit Ammoniak nur wenig dunkler, mit Natronlauge rotgelb färbt. Die Analyse ergab: 40,59% C, 4,79% H, 26,24% N, 28,38% O. Reinke und Rodewald geben an, daß der Wasserextrakt von *Aëthaliium* Purinkörper enthält, und zwar enthält der Bleiessigniederschlag Guanin, das Filtrat Sarkin (Hypoxanthin). Zur Prüfung auf Xanthin wurde entfettetes Protoplasma mit ammoniakalischem Wasser extrahiert, die Bleiessigfällung zersetzt und mit ammoniakalischem Silbernitrat gefällt. Beim Umkrystallisieren der Silberverbindungen aus verdünnter Salpetersäure wurden Flocken von feinen Krystallnadeln erhalten, welche die Xanthinsilbernitratdoppelverbindung darstellen. Diese Körper wurden nicht analysiert, sondern nur durch die Krystallformen ihrer Salze identifiziert. Der Gehalt an Guanin, Xanthin und Hypoxanthin zusammen beträgt nach der Schätzung von Reinke und Rodewald ca. 0,01% für lufttrocknes Protoplasma, die Menge des Xanthins allein soll 0,006% betragen.

Yoshimura³⁾ hat aus dem mit Bleiessig gereinigten wässerigen Extrakt aus *Boletus edulis* von Purinbasen nur Adenin als Pikrat isolieren können.

Im Mutterkorn wurde von Schulze und Bosshard⁴⁾ das Vernin aufgefunden, für das später von Schulze und Trier⁵⁾ die Identität mit dem von Levene und Jacobs⁶⁾

¹⁾ Monatsh. f. Chem., 1903, S. 63.

²⁾ Reinke und Rodewald, Untersuchungen aus dem botan. Laboratorium der Universität Göttingen. 1881. S. 47.

³⁾ Z. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel, Bd. 20. S. 153 (1910).

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 80 u. 326. — J. f. pr. Ch., Bd. 32, S. 432.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 70, S. 143; cf. *ibid.*, Bd. 66, S. 128.

⁶⁾ B. B., Bd. 42, S. 2469, 2474, 2703, 3247.

durch Spaltung von Guanylsäure und Hefenucleinsäure erhaltenen Guanodin nachgewiesen wurde. Das Vernin ist demnach ein Guaninpentosid und liefert bei der Spaltung Guanin und d-Ribose. Seine Formel ist: $C_{10}H_{13}O_5N_5 + 2 H_2O$. Aus Mutterkorn wurde es in der Weise gewonnen, daß der wässerige Extrakt mit Bleiessig gereinigt und das Filtrat mit Merkurinitrat ausgefällt wurde. Der Niederschlag wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat mit Ammoniak neutralisiert und eingeeengt, wobei sich das Vernin zunächst amorph ausscheidet. Aus Wasser umkrystallisiert, bildet es feine weiße Nadelchen. Das Mutterkorn enthält etwa 0,1% Vernin.

Phosphatide.

Die Körper dieser Gruppe dürfen wohl als nie fehlende Bestandteile der Pilze bezeichnet werden und sind von E. Schulze und seinen Mitarbeitern im *Boletus edulis* nachgewiesen worden.¹⁾ Genannter Pilz enthält 1,94% Lecithin, welches dargestellt und auf seine Spaltungsprodukte untersucht wurde. Zellner²⁾ bestimmte den Phosphorgehalt des Fettes aus *Amanita muscaria* und berechnet daraus für das Rohfett einen Lecithingehalt von 7,42%. Die Menge des Lecithins ist sicher noch größer, denn wie E. Schulze gefunden hat, kann man durch Extraktion mit Alkohol des schon mit Äther extrahierten Materials, noch weitere erhebliche Mengen Lecithin gewinnen. Lecithine sind außerdem in vielen anderen Pilzen durch den Phosphorgehalt des Fettes nachgewiesen.

Cerebroside.

Diese sonst nur im Tierreich beobachteten Körper sind bis jetzt in 2 Fällen bei Pilzen nachgewiesen worden. In *Lycoperdon bovista* L. fanden Bamberger und Landsiedl³⁾ einen Körper mit 64,48% C, 11,41% H, 1,48% N, der weder S noch P enthielt und beim Erhitzen sich bei 164° bräunte und bei 180—200° schmolz. Er ist unlöslich in Wasser und kalter Lauge, konzentrierte Schwefelsäure zersetzt ihn. Beim Kochen

¹⁾ Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. 43. S. 307; Bd. 46. S. 23.

²⁾ Monatsh. f. Chem., 1904. S. 176.

³⁾ Monatsh. f. Chem., 1905. S. 650.

mit 2%iger Schwefelsäure entsteht eine Lösung, welche reduzierende Eigenschaften besitzt. Zur Darstellung wurde der Alkoholextrakt nach Abdestillieren des Alkohols successive mit Äther, Chloroform und absolutem Alkohol erschöpft, und der Rückstand in heißem Eisessig gelöst. Beim Verdünnen mit Wasser schied sich der Körper aus und bildete getrocknet ein weißes, lockeres Pulver. Zellner¹⁾ fand einen ähnlichen Körper in den Mutterlaugen des Ergosterins aus Fliegenpilz. Das Präparat enthielt weder S noch P und sintert gegen 127°, um bei 133° zu schmelzen. Beim Kochen mit 2%iger H₂SO₄ entsteht eine reduzierende Flüssigkeit. Der Körper enthält etwas Asche und hat folgende Elementarzusammensetzung: 64,145% C, 11,90% H, 2,30% N.

Chitin.

Durch die Arbeiten von Gilson²⁾ und besonders von Winterstein³⁾ ist das Chitin, dessen Verbreitung im Tierreiche bei den Invertebraten schon längst bekannt war, als wichtiger Bestandteil der Pilzmembranen nachgewiesen worden. Seit Braconnot⁴⁾ bildeten die Zellmembranen der Pilze den Gegenstand zahlreicher und widersprechender Untersuchungen. Die ältere Literatur hierüber ist bei Winterstein⁵⁾ und bei Zellner⁶⁾ zusammengestellt. Während viele Forscher die Zellsubstanz der Pilze für echte Cellulose hielten, stellten andere den negativen Ausfall der typischen Jodreaktion fest. Als es nun Winterstein gelang, durch Hydrolyse Glukosamin daraus zu gewinnen, und als Gilson einen von ihm zuerst als Mykosin bezeichneten, mit Chitosan identischen Körper bei der Kalischmelze erhielt, da war der Schluß berechtigt, daß die Pilzmembranen einen mit Chitin identischen oder ihm doch sehr

¹⁾ Monatsh. d. Chem., Bd. 32, S. 133. — C., 1911, Bd. 1, S. 1303.

²⁾ B. B., Bd. 28, S. 821. — C. r., Bd. 120, S. 1000. — cf. La Cellule, Bd. 9 (2); Bd. 11 (5). — Bull., 1894, 9. Nov.

³⁾ B. B., Bd. 27, S. 3113. — cf. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 11, S. 141; Bd. 13, S. 65.

⁴⁾ Annales de chimie, Bd. 80, S. 283 ff.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 19, S. 521.

⁶⁾ Zellner, Chemie der höheren Pilze, S. 123.

ähnlichen Körper enthalten. Winterstein suchte nach den für die Darstellung der Cellulose aus Phanerogamen gebräuchlichen Methoden die entsprechende Pilzcellulose darzustellen. Dabei wurde nach den Oxydationsverfahren von F. Schulze, W. Hoffmeister, und nach der Alkalischmelzmethode von Hoppe-Seyler gearbeitet. Die erhaltenen Präparate waren in Kupferoxydammoniak nur spurenweise löslich, zeigten mit Jod und Schwefelsäure keine Blaufärbung, lösten sich größtenteils in 5–10%iger Natronlauge und enthielten beträchtliche, aber wechselnde Mengen von Stickstoff. Daß dieser N-Gehalt nicht durch die Anwesenheit von Eiweißkörpern bedingt ist, geht daraus hervor, daß die Präparate nur Spuren von P und S enthielten, keine Millonsche Reaktion zeigten, nach Hydrolyse mit Schwefelsäure keine Fällung mit Phosphorwolframsäure gaben, und endlich war der N-Gehalt mit kochenden Laugen nicht wegzuschaffen, vielmehr enthielten Präparate, welche nach der Alkalischmelzmethode von Hoppe-Seyler dargestellt waren, 5,69% N. Bei der Säurehydrolyse entstand Essigsäure. In einer zweiten Abhandlung berichtet Winterstein, daß er durch Erwärmen der Pilzcellulosepräparate mit konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbad, Dialysieren und Eindunsten der Hydrolysenflüssigkeit Krystalle erhielt, welche als salzsaures Glukosamin identifiziert wurden. Daneben wurde Essigsäure nachgewiesen. Des weiteren wurde das von Gilson¹⁾ bei der Kalischmelze erhaltene und als Mykosin bezeichnete Produkt untersucht. Es besitzt die Eigenschaften des aus Chitin durch Alkalischmelze entstehenden Chitosans:²⁾ Löslichkeit in verdünnten Säuren, Fällbarkeit durch konzentrierte Säuren oder durch Laugen. Die Reindarstellung des Chitins gelang nicht bei allen Spezien. Die mit Äther und Alkohol extrahierten Materialien wurden je einen Tag mit 1%iger und 2,5%iger Lauge digeriert. Nach dem Auswaschen wurden die Rückstände auf dem kochenden Wasserbad mit 2,5–3%iger Schwefelsäure 6–10 Stunden lang erwärmt und wieder gewaschen. Aus *Agaricus campestris* wurde ein Präparat mit 6,24% N er-

¹⁾ La Cellule, Bd. 11 (1).

²⁾ B. B., Bd. 27, S. 329.

halten, aus *Boletus edulis* ein solches mit 5,27% N, während das Präparat aus *Polyporus officinalis* nur 0,67% N enthielt. Diese Versuche wurden in letzter Zeit von Zellner insofern bestätigt, als es ihm ebenfalls nicht überall gelang, nach der Methode von Schöll¹⁾ reines Chitin zu erhalten. Daß es in manchen Fällen nicht leicht ist, reines Chitin aus Pilzen darzustellen, zeigen auch die Versuche von Ilkewitsch,²⁾ der auf Grund von Jod- und anderen mikrochemischen Reaktionen zu dem Schlusse gelangt, daß die Zellwandsubstanz der Pilze von Chitin und Cellulose verschieden, beiden aber sehr nahe verwandt ist. Seine Versuche stehen also in direktem Widerspruche zu denen von van Wisselingh³⁾ und Wester,⁴⁾ sowie zu dem chemischen Nachweis des Chitins durch fast quantitative Spaltung in Glukosamin. Im übrigen sind die von Ilkewitsch angewandten Unterscheidungsmethoden nicht zuverlässig. Immerhin läßt sich soviel sagen, daß die Trennung des Chitins von hemicelluloseähnlichen Kohlenhydraten nicht immer leicht durchzuführen ist, vielleicht ist auch die Hypothese einer Verbindung zwischen Chitin und Kohlenhydrat nicht ganz von der Hand zu weisen.

Experimenteller Teil.

Untersuchung von getrocknetem *Boletus edulis* (Steinpilz).

Bevor ich die Untersuchungen beschreibe, die an den verschiedenen Extrakten und Rückständen ausgeführt wurden, will ich kurz die Art ihrer Gewinnung angeben.

Verarbeitung von 1800 g getrocknetem Boletus edulis.

Das Material für diese Untersuchungen stammte aus Rußland (Polen). Die frischen Pilze waren dort auf Fäden gereiht und an der Sonne gedörst worden. Um sie besser zerkleinern zu können, trocknete ich sie noch einen Tag lang bei 45—50°.

¹⁾ Monatsh. f. Chem., Bd. 29, S. 1023.

²⁾ Bull. Acad. de St.-Petersbourg, 1908, S. 571. — C., 1909, Bd. 1, S. 772.

³⁾ Zeitschr. f. wissenschaftl. Botanik, Bd. 31, S. 619, 1898.

⁴⁾ Arch. d. Pharm., Bd. 247, S. 282. — C., 1909, Bd. 2, S. 1135.

Das fein gemahlene Pilzpulver von bräunlichgelber Farbe wurde im Thörnerschen Extraktionsapparate während 25 Stunden mit Äther heiß extrahiert. Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß eine herausgenommene Probe nichts mehr an Äther abgab, wurde das Material durch starkes Pressen möglichst vom Äther befreit. Die letzten Reste davon wurden nach Ausbreiten auf Filtrierpapier durch Verdunsten an der Luft entfernt.

Das entfettete trockene Pulver wurde hierauf mit 4 l Alkohol von 95% unter guter Rückflußkühlung während 2—3 Stunden auf dem Wasserbade ausgekocht. Der überstehende, tiefbraun gefärbte alkoholische Extrakt wurde heiß durch ein Tuch abgossen und der übrige Teil in einer Schraubenpresse scharf abgepreßt. Dann wurde der Preßkuchen zerkleinert und neuerdings mit 3 l Alkohol ausgekocht, abgepreßt, und diese Operationen wurden 7 mal wiederholt. Schon nach dem 6. Auskochen war der Alkohol nur mehr gelblich gefärbt und hinterließ beim Abdunsten nur wenig Rückstand. Beim 7. Male ging nur sehr wenig in Lösung, sodaß die Alkoholextraktion abgebrochen wurde. Der zerkleinerte Preßkuchen wurde mit 4 l Wasser während 2—3 Stunden unter öfterem Umrühren auf dem Wasserbad erwärmt. Dabei quoll er stark auf und bildete eine schleimige Masse, die sich in keiner Weise filtrieren, noch weniger abpressen ließ. Durch Zusatz von etwas Alkohol wurde ein Teil der Schleimsubstanzen koaguliert, sodaß die ganze Masse auf ein feines Straminsieb gebracht werden konnte. Das anfangs trüb durchgehende Filtrat wurde wieder aufgeossen. Diese Operation dauerte zwar einen Tag, aber es konnte doch ein klares Filtrat erhalten werden. Nachdem die Masse einigermaßen abgelaufen war, wurde sie weiter mit Wasser digeriert und diesmal verlief die Filtration auf dem Straminsieb schon bedeutend rascher. Der 4. Extrakt lieferte mit Bleiessig nur noch eine sehr geringe Fällung, war aber noch etwas gefärbt, während der 6. nur mehr sehr schwach gelb gefärbt war und mit Bleiessig kaum noch eine Fällung gab. Da die Färbung des Extraktes schließlich nicht mehr abnahm, hatte es den Anschein, als finde durch das Kochen mit Wasser eine geringe Zersetzung statt. Die Extraktion wurde also beendet. Jeder einzelne Extrakt

wurde gleich nach dem Filtrieren abgemessen und 5% davon für quantitative Bestimmungen unter Toluol aufgehoben. Der Rest, zusammen 40 Liter, wurde sofort mit Bleiessig ausgefällt.

Der Rückstand bildete eine aufgequollene Masse und konnte nicht abgepreßt werden. Er wurde daher auf dem Siebe ablaufen gelassen und unter Alkohol gebracht, um ihn vom Wasser zu befreien. Nun ließ er sich abpressen und nachdem er wieder unter frischem Alkohol 2 Tage gestanden hatte, wurde er nochmals abgepreßt und auf Filtrierpapier an der Luft getrocknet, wobei er sich dunkelbraun färbte.

Sein Gewicht in lufttrockenem Zustande betrug 810 g, entsprechend 45% des Ausgangsmaterials.

Verarbeitung von 2500 g getrocknetem Boletus edulis.

Dieses Material stammte von Pilzen, die aus Moskau durch Herrn Prof. Winterstein bezogen waren und mir von demselben als teilweise entfettetes Pulver in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellt wurden. Durch 16stündiges Extrahieren im Thörnerschen Apparat wurde es vollständig von ätherlöslichen Stoffen befreit. Im übrigen wurde es ähnlich wie das vorige Material behandelt, und werde ich im weiteren nur angeben, inwiefern das Arbeitsverfahren von dem vorigen abweicht.

Beim Extrahieren mit Wasser wurde wie beim ersten Mal die aufgequollene Masse auf dem Straminsieb ablaufen gelassen, aber ohne Alkoholzusatz. Es dauerte zwar etwas länger, jedoch konnte auch diesmal durch Wiederaufgießen des ersten, durch mitgegangenenes Pulver getrüben Ablaufs, ein klarer dunkelbrauner Extrakt erhalten werden. Der Rückstand wurde hierauf durch Dekantation gewaschen und noch 6 mal ausgekocht. Die Filtrate wurden sofort mit etwa dem gleichen Volumen Alkohol versetzt. Es waren insgesamt etwa 50 l Wasserextrakt erhalten worden. Auch die Behandlung des Rückstandes wurde diesmal etwas abgeändert. Er verblieb zuerst 5 Tage unter 70%igem Alkohol, wurde abgepreßt, kam dann unter 95%igen während 2 Tagen. Nachdem er abgepreßt worden war, verblieb er wieder mehrere Tage unter Äther, kam wieder zur Presse und wurde erst auf Filtrierpapier bei gewöhnlicher Tem-

peratur, dann bei 40° im Trockenschrank getrocknet. Diesmal blieb er fein pulverig und war nur gelblich gefärbt. Sein Gewicht betrug: 1210 g, entsprechend 49% des Ausgangsmaterials.

Der Ätherextrakt.

Er wurde durch Abdestillieren von der Hauptmenge des Äthers befreit. Nach einigem Stehen schied sich eine feste Masse aus, welche die Cholesterinreaktionen zeigte. Hofmann¹⁾ untersuchte den Ätherextrakt von *Boletus edulis* und fand, daß darin ein Cholesterin, Fette und Lecithin vorhanden sind, und zwar bezogen auf lufttrockenes Material: Cholesterin: 0,52%, Fett: 3,2%.

Untersuchung des Alkoholextraktes.

Die portionenweise bis zum dünnen Sirup abdestillierten alkoholischen Extrakte wurden vereinigt. Bald entstand eine ansehnliche Menge schöner Krystalle, die nach mehrere Monate langem Stehen noch zunahm. Sie zeigten die charakteristischen, oktaëderähnlichen Formen der Trehalose, waren aber noch etwas gelblich gefärbt. Ihr Gewicht betrug 110 g. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren wurden sie in großen, weißen Krystallen erhalten, die süß schmeckten und die Fehlingsche Lösung nicht reduzierten. Auch in bezug auf ihr Verhalten beim Erhitzen stimmten sie völlig mit der Trehalose überein. Durch einmaliges Fällen ihrer konzentrierten wässrigen Lösung mit absolutem Alkohol wurde ein rein weißes Krystallmehl erhalten, das über Schwefelsäure getrocknet wurde. Der Schmelzpunkt lag zwischen 99 und 100°, und das in 9%iger Lösung im Soleil-Ventzke-Apparat bestimmte Drehungsvermögen betrug + 184,2°.

1,8040 g in destilliertem Wasser zu 20 ccm gelöst, wurden im 20 cm-Rohr polarisiert. Abgelesen: + 96,6° S.-V. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 184,2^\circ$. Berthelot fand das Drehungsvermögen = 199°, Apping²⁾ = 197,28°, Winterstein³⁾ = 174,66—177,32°.

Das Volumen des Sirups betrug ca. 1300 ccm. In einer

¹⁾ Hofmann, Dissertation, Zürich 1901.

²⁾ Apping, Dissertation, Dorpat 1885.

³⁾ Winterstein, Diese Zeitschrift. Bd. 19, S. 75.

gewogenen Platinschale wurde die Trockensubstanz in 5 ccm bei 105° bestimmt. Sie betrug: 1,424 g, entsprechend 370 g für die gesamten Extrakte. Eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab 0,0975 g N pro 5 ccm, oder 24,35 g N im Alkoholextrakt. Die gelöste Trockensubstanz enthält demnach 6,85% N. Dieser sehr hohe N-Gehalt kann nur zu einem geringen Teil vom Lecithin herrühren, das nur etwa 1,75 bis 2% N enthält. Da schon E. Schulze und seine Schüler Untersuchungen über das Lecithin aus *Boletus edulis* angestellt haben (wobei sie fanden, daß ein beträchtlicher Teil desselben sich im Alkoholextrakt des mit Äther entfetteten Materials vorfindet), befaßte ich mich nicht weiter mit diesem Körper. Ich suchte nur noch Aufschluß über die Natur der Substanzen zu erhalten, welche den hohen N-Gehalt des Sirups bedingen. Zu diesem Zwecke wurde die Hauptmenge in folgender Weise verarbeitet:

1000 ccm des schwarzbraunen, dickflüssigen Extraktes wurden auf dem Wasserbad von den letzten Resten Alkohol befreit. Dann wurde nach Zusatz von Wasser einige Zeit auf dem Wasserbad erwärmt, und es schieden sich an der Oberfläche dunkle, schmierige Häute ab, wahrscheinlich Lecithin, während die Flüssigkeit milchig getrübt war. Nun wurde mit Bleiessig ausgefällt, solange noch ein Niederschlag entstand. Das Filtrat wurde mit Schwefelsäure entbleit, und zu dem etwa 5% Schwefelsäure enthaltenden neuen Filtrat wurde Phosphorwolframsäure zugesetzt. Nach 24 Stunden wurde der gelbe Niederschlag abgenutscht, mit 5%iger Schwefelsäure verrieben und gewaschen, dann mit überschüssigem Baryt zersetzt. Um das Ammoniak zu entfernen, wurde die Masse einige Tage lang durch ein mit Windflügeln versehenes Rührwerk aufgewirbelt, bis ein darüber aufgehängtes rotes Lackmuspapier sich nicht mehr bläute. Gleichzeitig verschwand ein anderer widerlicher Geruch einer flüchtigen Base, wahrscheinlich Trimethylamin, da diese Base später in einem andern Objekt nachgewiesen wurde. Die weitere Verarbeitung geschah in bekannter Weise nach Kossel und Kutscher.¹⁾ Das Baryumphosphorwolframat mußte sehr

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 31, S. 165.

lange ausgewaschen werden, ehe die basische Reaktion verschwunden war. Das Filtrat wurde durch Einleiten von Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit,¹⁾ eingeeengt, mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit einer 50%igen Silbernitratlösung versetzt, bis eine Probe mit Barytwasser eine braune Fällung von Silberoxyd gab. Der in der sauren Flüssigkeit erhaltene Niederschlag, der die Alloxurbasen einschließt, wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen. Seine weitere Verarbeitung soll weiter unten beschrieben werden.

Das noch braun gefärbte Filtrat wurde nun mit Barytlösung versetzt, bis in einer Probe mit ammoniakalischer Silbernitratlösung keine weiße Silberfällung mehr auftrat. Die so ausgefällte «Histidinfraktion» wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser, dem wenige Tropfen Barytlösung zugesetzt wurden, ausgewaschen. Über die weitere Behandlung dieser Fraktion siehe weiter unten.

Aus dem Filtrat wurde nun durch Sättigen mit gepulvertem Baryt die Argininfraktion erhalten. Dabei färbte sich die Flüssigkeit schwarz und erstarrte nach kurzer Zeit zu einer festen Gallerte. Nach 24 Stunden wurde die Masse noch einmal gut durchgerührt, mit Barytwasser verdünnt und auf zwei große Filter gebracht. Nachdem die Flüssigkeit abgelaufen war, was allerdings über einen Tag dauerte, wurde die schwarze Fällung samt Filter mit Barytwasser verrührt und auf einer Nutsche abgesaugt. Jetzt, wo die Mutterlauge größtenteils entfernt war, ging das Auswaschen ziemlich rasch vonstatten, und die Fällung hatte eine käsige Beschaffenheit angenommen. Über die weitere Verarbeitung der Argininfraktion siehe weiter unten.

Zu dem schwarzbraunen Filtrat wurde etwas Salzsäure zugefügt, um das gelöste Silber zu fällen, dann Schwefelsäure bis zur sauren Reaktion. Hierauf wurde abfiltriert und das Filtrat mit Schwefelsäure 5%ig gemacht, mit Phosphorwolframsäure versetzt und die «Lysinfraktion» nach 24 stündigem Stehen abfiltriert. Die Fällung wurde mit 5%iger Schwefelsäure verrieben und auf

¹⁾ Beim Einleiten von CO₂ zeigen barythaltige Lösungen häufig eine unangenehme Schaumbildung, die in einfacher Weise durch eine Spur Äther aufgehoben wird.

der Nutsche ausgewaschen. Die weitere Behandlung dieses Niederschlages wird weiter unten beschrieben werden.

Aminosäuren.

Das Filtrat von der ersten Phosphorwolframsäurefällung wurde mittels Baryt von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure befreit und auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbade eingengt. Der braune Sirup kam über Schwefelsäure.

Es trat jedoch wohl infolge der reichlichen Gegenwart von Zucker keine Krystallisation ein, und ich versuchte nun, die Aminosäuren nach der Estermethode E. Fischers zu gewinnen. Die Hälfte des Sirups wurde im Vakuum bei 40° bis zur zähen Konsistenz eingengt und verestert. Da in dem Folgenden die Arbeitsweise bei einer anderen Veresterung näher beschrieben werden wird, brauche ich hier darauf nicht weiter einzugehen. Die Menge der rohen Ester war nicht sehr bedeutend. Bei der Fraktionierung im Vakuum wurden 4 Portionen aufgefangen:

I.	50— 55° Kp.	Thermometer im Dampf,	12 mm Druck,	3,5 g
II.	75— 85°	»	»	1,6 »
III.	140—160°	»	»	1,0 »
IV.	180°	»	»	0,4 »

Summe: 6,5 g.

Der Destillationsrückstand war nicht unbeträchtlich.

Phenylalanin. Beim Versetzen mit Wasser trat schon in Fraktion II eine ölige Trübung auf, so daß bereits diese Fraktion mit Äther ausgeschüttelt wurde. Eine stärkere ölige Abscheidung trat auf bei III und IV. Alle ätherischen Lösungen wurden vereinigt, der Äther verdampft, und der Rückstand 2 mal mit konzentrierter Salzsäure abgeraucht, wobei eine dunkel gefärbte, schmierige Masse zurückblieb. Sie wurde mit Wasser aufgenommen, mit Ammoniak neutralisiert und stehen gelassen. Eine gelblich gefärbte Abscheidung wurde abgesaugt und ein Teil mit Bichromat und Schwefelsäure erhitzt. Es war deutlich der Geruch nach Phenylacetaldehyd wahrzunehmen, und bei längerem Erhitzen mit überschüssigem Bichromat schieden sich

dünne weiche Blättchen aus, welche beim Eindunsten mit Salpetersäure nach Nitrobenzol riechen und also als Benzoesäure anzusprechen sind. Daß kein reines Phenylalanin vorlag, geht aus der Analyse des Kupfersalzes hervor, welches 17,94% Cu enthielt.

0,1069 g gaben 0,0240 g CuO, während sich für Phenylalaninkupfer 16,3% Cu berechnen. Es stellt also wohl ein Gemisch von Phenylalanin mit anderen Aminosäuren dar. Wegen der geringen Menge an Substanz habe ich keine Reinigung versucht, sondern mich mit dem qualitativen Nachweis begnügt.

Alanin. Die wässerigen Lösungen von Fraktion I und II wurden durch etwa 6stündiges Kochen mit Wasser am Rückflußkühler verseift. Sobald die Reaktion nicht mehr alkalisch war, wurde zur Trockne verdampft, je 3mal mit absolutem Alkohol ausgekocht, dann in Wasser gelöst und durch Kochen mit Kupferhydroxyd nach Heintz in die Kupfersalze übergeführt. Beim Erkalten schied die verdünnte Lösung aus I hellblaue Krystallblättchen aus, welche offenbar aus Leucinkupfer bestanden. Die folgende Krystallisation war dunkler gefärbt und nach einmaligem Umkrystallisieren wurde reines Alaninkupfer erhalten, und zwar racemisches. Nach dem Trocknen bei 100° enthielt es immer noch ein Molekül Wasser, welches es erst sehr langsam bei 115° abgibt. Es krystallisiert in tief blau gefärbten schiefen Prismen.

0,1183 g, 100° trocken, gaben 0,0361 g CuO = 24,38% Cu.

Berechnet für $(C_3H_6NO_2)_2Cu + H_2O$: 24,68% Cu.

Eine neue Fraktion enthielt 24,74% Cu:

0,1402 g, 100° trocken, gaben 0,0434 g CuO.

Beim Trocknen nahm das Cu-Salz einen ausgesprochenen violetten Stich an. 0,1822 g, 115° trocken, gaben 0,0608 g CuO = 26,60% Cu.

Berechnet für $(C_3H_6NO_2)_2Cu$: 26,52% Cu.

Auch die folgende Krystallisation bestand noch aus Alaninkupfer:

0,2585 g, 115° trocken, gaben 0,0853 g CuO = 26,37% Cu.

Die Mutterlauge wurde zur Trockne verdampft und mehrmals mit Methylalkohol ausgekocht. Die Lösung wurde wieder

eingedunstet und bildete nach dem Aufnehmen mit Wasser und Einengen einen dicken, intensiv blauen Sirup, der in keiner Weise zur Krystallisation gebracht werden konnte. Der in Methylalkohol unlösliche Anteil wurde zu einer Cu-Bestimmung verwendet: 0,1187 g gaben 0,0354 g CuO = 23,83% Cu. Diese Zahl stimmt zufällig auf das Cu-Salz der Aminobuttersäure, welche bisher weder bei der Eiweißhydrolyse noch sonst in der Natur gefunden worden ist. Jedenfalls geht aus dem niedrigen Cu-Gehalt hervor, daß kein Glykokoll vorhanden ist.

Um mich zu vergewissern, daß wirklich racemisches Alanin vorliegt, wie schon der Krystallwassergehalt des Kupfersalzes vermuten läßt, regenerierte ich aus einem Teil des analysierten Cu-Salzes das Alanin und löste es in Normal-Salzsäure. Die Lösung erwies sich als vollkommen inaktiv, und das daraus gewonnene Platinsalz war in Wasser, Alkohol und Alkohol-äther leicht löslich, woraus hervorgeht, daß es sich nicht etwa um das ebenfalls inaktive β -Alanin handeln kann.

Das bei der Aufarbeitung der Prolinfraktion erhaltene Hydantoin schmolz bei 128°, annähernd wie das des Valins (131—133° korr.). Prolin war also nicht vorhanden.

Alloxurbasenfällung.

Die mit Silbernitrat in schwach salpetersaurer Lösung erhaltene Fällung war ziemlich beträchtlich. Diese Silbernitratverbindungen wurden durch Behandeln mit überschüssigem Ammoniak in die Silberverbindungen übergeführt,¹⁾ welche erst mit verdünntem Ammoniak, dann mit Wasser ausgewaschen wurden. Die weitere Verarbeitung geschah nach Krüger und Salomon.²⁾ Die Silberverbindungen wurden in einem Rundkolben im kochenden Wasserbade mit soviel verdünnter Salzsäure zersetzt, bis keine weiße Fällung von Chlorsilber mehr zu beobachten war, dann die gleiche Menge Salzsäure zugefügt und einige Minuten über freier Flamme gekocht. Die braune Lösung der Purinbasenchloride wurde nun auf dem Wasserbade

¹⁾ Kutscher und Seemann. Diese Zeitschrift, Bd. 26, S. 373.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 35, S. 437.

unter Zuhilfenahme eines mit Windflügeln versehenen Rührers mehrmals mit Wasser, dann mit Alkohol abgedunstet und so die Salzsäure möglichst entfernt. Der braunschwarze schmierige Rückstand wurde mit Wasser schwach erwärmt und ging völlig in Lösung. Auf Zusatz von Ammoniak entstand ein bräunlicher feinpulveriger Niederschlag, der nach einigem Stehen von der dunkelbraun gefärbten Flüssigkeit abfiltriert wurde. Diese Fällung schließt das Guanin, eventuell Epiguanin ein. Zur Reinigung wurde sie mit 1%iger Essigsäure ausgekocht und heiß vom Ungelösten abfiltriert. Das essigsäure Filtrat wurde mit Soda neutralisiert, und eine Probe davon zeigte die Diazobenzolsulfosäurereaktion selbst in stark sodaalkalischer Lösung. Der Rest wurde nun mit wässriger Pikrinsäure versetzt. Sofort trat eine gelbe flockige Fällung auf, welche abgesaugt, in viel heißem Wasser gelöst und mit Tierkohle behandelt wurde. Aus dem Filtrat schieden sich beim Einengen mikroskopische, gelbe Nadeln aus, welche sich im Kapillarrohr bei 200° bräunten und sich bei 280° unter Aufschäumen zersetzten. Dieses Verhalten und das Aussehen unter dem Mikroskop machen es sehr wahrscheinlich, daß Adeninpikrat vorlag, das durch Ammoniak mitgefällt worden war und durch die heiße Essigsäure wieder in Lösung gebracht wurde. Die Beobachtung, daß nach dem von mir befolgten Trennungsverfahren von Krüger und Salomon auch Adenin durch das Ammoniak, besonders bei längerem Stehen ausgefällt wird, machte auch Kossel.¹⁾

Der in 1%iger Essigsäure unlösliche Anteil wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst. Nach einigen Tagen hatten sich Krusten von glänzenden Krystallaggregaten abgeschieden, die aus heißer verdünnter Schwefelsäure umkrystallisiert wurden. Beim langsamen Abkühlen schieden sich makroskopisch sichtbare, feine Nadeln aus, wie sie für Guaninsulfat beschrieben sind. Die Krystalle waren noch etwas gelb gefärbt, lösten sich nicht in Wasser, wohl aber in verdünnter Schwefelsäure, mit welcher Lösung Metaphosphorsäure eine flockige Fällung gab, unlöslich in überschüssiger Säure, löslich in Alkali, beim Er-

¹⁾ Kossel. Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 251.

wärmen ebenfalls verschwindend. Diese säureunlösliche Metaphosphorsäureverbindung¹⁾ ist charakteristisch für Guanin. Das Gewicht des gut krystallisierten Sulfates betrug nur etwa 0.05 g, so daß eine Analyse nicht vorgenommen werden konnte. Aus den Mutterlaugen des Guaninsulfates konnte auf Zusatz von etwas heißer Natriumpikratlösung eine in der Kälte krystallisierende Abscheidung erhalten werden, und zwar feine orange Nadelchen, beim Trocknen filzartig zusammenklebend, von dem gleichen Aussehen wie ein Guaninpikratpräparat der hiesigen Sammlung.

Das Filtrat von der Fällung des Guanins mittels Ammoniak wurde durch Erhitzen auf dem Wasserbade von überschüssigem Ammoniak befreit und mit wässriger Pikrinsäure versetzt, solange noch eine Fällung auftrat. Letztere war schmutzig gelb gefärbt, wurde sofort abgesaugt und aus Wasser nach Kochen mit Tierkohle umkrystallisiert. Es konnte aber nur Ammonpikrat in krystallisierter Form erhalten werden, und das vorhandene Adenin scheint völlig in die Guaninfällung eingegangen zu sein.

Das Filtrat von der Fällung mit Pikrinsäure kann das leichter lösliche Hypoxanthin-pikrat enthalten. Es wurde daher mit Schwefelsäure versetzt und mit Äther die freie Pikrinsäure ausgeschüttelt. Nach Neutralisation mit Ammoniak wurden die noch vorhandenen Alloxurbasen mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt, die Silberverbindungen mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat eingedunstet. Der Rückstand wurde mit heißer verdünnter Salpetersäure aufgenommen, und nach dem Einengen schieden sich die für Hypoxanthinnitrat charakteristischen, wetzsteinförmigen Krystalle ab, jedoch reichte die Menge nicht für eine Analyse.

Histidinfraktion.

Die Verarbeitung geschah nach den Angaben von Kossel und Patten²⁾. Die Histidinsilberfällung wurde mit 50 ccm 5%iger Schwefelsäure aufgeschlämmt und durch Einleiten von

¹⁾ Wulff, Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 468.

²⁾ Kossel und Patten, Diese Zeitschrift, Bd. 38, S. 41.

Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Schwefelsilber wurde abfiltriert und mit heißem Wasser ausgewaschen. Die Filtrate wurden auf ein Volumen von etwa 100 ccm eingengt, sodaß die Lösung ca. 2,5% Schwefelsäure enthielt. Nun wurde mit einem geringen Überschuß von Quecksilbersulfatlösung versetzt, und die gelbe flockige Fällung absitzen gelassen. Anderntags wurde sie abfiltriert und nach Zerteilung in Wasser mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Quecksilbersulfid wurde auf dem Wasserbad eingengt, um den Schwefelwasserstoff zu vertreiben, und Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaktion zugefügt. Das überschüssige Baryum wurde im Filtrat durch Einleiten von Kohlensäure beseitigt, und das neue Filtrat samt Waschwasser nach Neutralisation mit Salzsäure auf dem Wasserbade eingengt. Nach längerem Stehen schieden sich glashelle, harte Prismen aus, die sich in viel heißem Wasser lösten. Bei dem Veraschen auf dem Platinspatel hinterblieb kein Rückstand. Alle Histidinreaktionen, Diazobenzolsulfosäure-, Brom-, Biuretreaktion, fielen negativ aus. Das Chlorhydrat schmolz unter Zersetzung gegen 274° und seine wässrige Lösung reagierte sauer. Auf Zusatz von Goldchlorid entstand eine Fällung, welche durch Erwärmen unter Zusatz von etwas verdünnter Salzsäure wieder in Lösung gebracht werden konnte. Beim Stehen schieden sich schöne gelbe Nadeln aus, neben kleineren Krystallen. Das Platinsalz erwies sich als schwer löslich und es wurde die Hauptmenge des Chlorhydrates in dasselbe übergeführt. Nach Zusatz von Platinchlorid wurde etwas auf dem Wasserbade eingengt, und die körnige Fällung abgesaugt.

Sie enthielt 34,87% Pt. 0,2696 g gaben 0,0940 g Pt.

Auffallend war die Zunahme der Abscheidung beim Erwärmen auf dem Wasserbade, sodaß es den Anschein besaß, als sei das Doppelsalz in heisem Wasser weniger löslich als in kaltem. Allein einmal ausgeschieden erwies es sich als fast unlöslich. Bei einer anderen Platinbestimmung wurden 38,05% Pt erhalten. Hierbei war die Lösung längere Zeit auf dem Wasserbad erhitzt worden unter Zusatz von verdünnter Salzsäure, um das abgeschiedene Platinsalz wieder in Lösung zu bringen, was aber nur sehr unvollständig gelang. Auf Cytosin,

das man in dieser Fraktion vermuten konnte, und das ein Chlorhydrat von ungefähr demselben Schmelzpunkt (275—279°), sowie ein schwer lösliches Platinsalz besitzt, stimmen die Analysenzahlen gar nicht, und da das mehrfach umkrystallisierte Chlorhydrat ganz einheitlich aussah, so wurde die Annahme wahrscheinlich, daß das Platinsalz je nach den Bedingungen eine wechselnde Zusammensetzung besitzt. Das Au-Salz verwitterte stark beim Trocknen und war auch wegen der nicht einheitlichen Krystallform für die Analyse nicht geeignet. Hingegen entstand auf Zusatz von Natriumpikrat zur wässerigen Lösung des Chlorhydrates eine Fällung, welche aus feinen seidenglänzenden Nadeln bestand, die sich bei 280° zersetzten und dem äußeren Ansehen nach dem Adeninpikrat vollständig ähnlich waren. Eine N-Bestimmung nach Dumas in der bei 105° getrockneten Substanz ergab folgendes Resultat:

0,1009 g gaben 28,1 ccm N bei 15° und 719 mm = 30,68% N.

Berechnet für Adeninpikrat $C_5H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7 = 30,78\% N$.

Es kann sich somit nur um Adeninchlorhydrat handeln, welches sich in der Tat so verhält wie oben angegeben, und die Verschiedenheit in den Platinwerten erklärt sich dadurch, daß Adenin ein Platinsalz der Formel $(C_5H_5N_5 \cdot HCl)_2 \cdot PtCl_4$ liefert, welches sich in der Hitze umwandelt in ein Salz $C_5H_5N_5 \cdot HCl \cdot PtCl_4$. Der von mir zuerst gefundene Wert liegt zwischen den für diese Formeln berechneten, was nicht zu verwundern ist, wenn man bedenkt, daß diese Fällung in konzentrierter Lösung vorgenommen wurde, nur kurze Zeit erwärmt wurde, und daß die Schale hierauf längere Zeit im Exsikkator stehen blieb, wobei das erstere, normale Platinsalz auskrystallisieren konnte. Bei der zweiten Bestimmung, wobei längere Zeit erwärmt und die reichliche Fällung bald abfiltriert wurde, liegt der Platinwert sehr nahe dem für die zweite Formel geforderten, nämlich 38,3%. Die «Histidin»-Fällung kann somit unter Umständen Adenin einschließen, welches der in schwach salpetersaurer Lösung mit Silbernitrat vorgenommenen Alloxurbasenfällung entgeht. Das nach Kossel und Patten (l. c.) angewandte Reinigungsverfahren beseitigt das Adenin nicht, denn wie ich mich durch einen Versuch überzeugte, wird

reines Adenin in schwefelsaurer Lösung durch Merkurisulfat gefällt.

Die Mutterlauge des Adeninchlorhydrates war braun gefärbt. Sie wurde mit Tierkohle möglichst entfärbt und zeigte die Diazoreaktion, nicht aber die anderen empfindlichen Histidinreaktionen. Mit Natriumpikrat entstand eine harzige, braune Fällung. Auch mit Goldchlorid entsteht eine Fällung, doch konnte das Goldsalz wegen anhaltender Goldabscheidung nicht rein erhalten werden, und begnügte ich mich, festzustellen, daß die daraus regenerierte Lösung des Chlorides eine starke Diazoreaktion zeigte.

Argininfraktion.

Die Silberfällung der «Argininfraktion» wurde mit kaltem Barytwasser bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaktion gewaschen, mit verdünnter Schwefelsäure aufgeschlämmt bis zur sauren Reaktion, und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Silbersulfid nebst Waschwasser wurde durch Aufkochen vom Schwefelwasserstoff befreit, erkalten gelassen und mit Baryt bis zur stark alkalischen Reaktion versetzt. Das Filtrat vom Baryumsulfat wurde durch Einleiten von Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit, filtriert, eingeeengt und mit Salpetersäure neutralisiert. Beim Stehen über Schwefelsäure bildete sich eine bräunliche Masse, welche durch Kochen mit Tierkohle ziemlich weitgehend entfärbt wurde. Auf Zusatz von Natriumpikrat schieden sich nach einigem Stehen sehr feine verfilzte Nadeln ab, die bei 201° schmolzen. Auf weiteren Zusatz von Natriumpikrat lieferte die Mutterlauge eine weitere reichliche Abscheidung desselben Pikrates, insgesamt fast 8 g. Nach mehrfachem Umkrystallisieren änderte sich der Schmelzpunkt nicht weiter. Es krystallisiert in feinen zu Büscheln vereinigten Nadelchen, die trocken eine verfilzte wollige Masse von hellgelber Farbe darstellen. Bei der Verbrennung nach Dumas lieferten 0,1800 g Substanz bei 105° getrocknet 32,6 ccm N bei 19° und 733 mm = 19,97% N.

0,1659 g gaben 30,0 ccm N bei 16° und 729 mm = 20,11% N.

Da die N-Bestimmung keine auf Argininpikrat stimmenden

Werte ergeben hatte, so wurde das Pikrat wieder mit heißer, verdünnter Schwefelsäure zersetzt und die ausgeschiedene Pikrinsäure abgesaugt. Das Filtrat wurde noch einige Male ausgeäthert, auf dem Wasserbade von gelöstem Äther befreit und durch Verdünnen mit Wasser auf eine Konzentration von 5% H_2SO_4 gebracht. Auf Zusatz von Phosphorwolframsäure schied sich eine schleimige Fällung ab, die trübe durch das Filter ging und es bald verstopfte. Sie wurde daher kurze Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, wobei sie sich zusammenballte. Am anderen Tage wurde sie abgenutscht, in bekannter Weise mit Baryt zerlegt und die Basenlösung mit Salpetersäure neutralisiert. Beim Einengen auf dem Wasserbade schieden sich wavelitartige Krystallgebilde aus, und beim Reiben erstarrte die ganze Masse zu einem Krystallbrei. Dieser wurde mit Wasser aufgenommen und mit Kupferhydroxyd gekocht. Das Filtrat war nicht so stark blau gefärbt, wie dies beim Arginin-kupferniträt der Fall zu sein pflegt, und beim Stehen über Schwefelsäure entstand ein Sirup, der keine Anlagen zur Krystallisation zeigte. Er wurde daher wieder mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat eingengt. Beim ruhigen Stehen über Schwefelsäure schied sich das Niträt in großen, glashellen Krystallen aus, die wie dicke rhombische Platten, manchmal auch wie verzernte Oktaeder aussahen. Sie verbrennen vollständig unter Verbreitung eines spermaähnlichen Geruches.

Zur Identifizierung wurde das Niträt über die Silberverbindung in das Chlorid verwandelt. Die wässrige Nitratlösung wurde mit soviel 25%iger Silbernitratlösung versetzt, bis ein Tropfen mit überschüssigem Barytwasser eine braune Fällung lieferte. Nun wurde die klare Lösung mit umkrystallisiertem, gepulvertem Baryt gesättigt, wobei eine voluminöse, anfangs weiße, dann braune Fällung auftrat. Sie wurde mit Barytwasser gewaschen und in schon beschriebener Weise in das Carbonat, eine feste kreidige Masse, dann in das Chlorid verwandelt. Dieses krystallisierte nicht. Im Vakuumexsikkator erstarrte es zu einer spröden Masse. Mit Goldchlorid entstand eine Fällung von gelben Nadelchen, welche bei 174° unter Aufschäumen schmolzen. Da

die Fällung gut krystallisiert war, wurde sie, ohne umzulösen oder umzukrystallisieren, analysiert:

0,1137 g gaben 0,0469 g Au = 41,25% Au

0,1640 „ „ 0,0675 „ Au = 41,16% Au.

Das Platinsalz erwies sich ebenfalls als schwer löslich und ergab direkt ausgefällt und nicht umkrystallisiert folgende Werte:

0,1588 g gaben 0,0507 g Pt = 31,93% Pt

0,1536 „ „ 0,0494 „ Pt = 32,16% Pt.

Der Platin- und der Goldwert stimmen untereinander garnicht überein. Ein normales Goldsalz mit 41,2% Au würde einem Platinsalz mit 28,35% Pt entsprechen. Es ergab sich nun, daß das Goldsalz in der Tat nicht normal zusammengesetzt war. Beim Umkrystallisieren des Goldsalzes aus verdünnter Salzsäure unter Zusatz von etwas Goldchlorid wurden zentimeterlange, orangegelbe Spieße erhalten. Diese schmolzen bei 182° und enthielten: 45,09% Au und 32,30% Cl.

0,1018 g gaben 0,0459 g Au und 0,1330 g AgCl.

Die Goldbestimmung geschah durch Fällen mit Schwefelwasserstoff, und die Chlorbestimmung wurde im Filtrate ausgeführt, das durch längeres Erwärmen auf dem Wasserbade vom überschüssigen Schwefelwasserstoff befreit worden war. Bei genügender Verdünnung hat man keine Verluste an Chlor durch Entweichen von Salzsäure zu befürchten. Außerdem wurde eine C-H-Bestimmung mit demselben Goldsalze ausgeführt:

0,2835 g im Platinschiffchen verbrannt ergaben:

0,1277 g CO₂ = 12,29% C

0,0474 g H₂O = 1,87% H.

Weiter wurde eine Elementaranalyse des Pikrates ausgeführt:

0,3233 g bei 105° getrocknet gaben:

0,4983 g CO₂ = 42,04% C

0,1280 „ H₂O = 4,43% H.

0,1834 g bei 105° getrocknet gaben:

33,3 ccm N bei 18° und 733 mm = 20,01% N.

Aus diesen Analysenzahlen berechnet sich die Bruttoformel C₁₅H₁₈N₆O₉, welche verlangt: 42,20% C, 4,25% H, 19,71% N.

Nach Abzug eines Moleküls Pikrinsäure bleibt für die freie Base: $C_9H_{15}N_3O_2$. Diese Bruttozusammensetzung stimmt nun überein mit derjenigen einer Base, welche Kutscher in dem Handelspräparat «Hercynia» aus Champignon aufgefunden hat. Für das Goldsalz dieses Körpers, $C_9H_{15}N_3O_2 \cdot 2 HAuCl_4$,

berechnet sich:	Gefunden:
44,96 % Au	45,09 %
32,33 % Cl	32,30 %
12,31 % C	12,29 %
1,95 % H	1,87 %

Die Analyse des Goldsalzes stimmt also sehr gut mit den berechneten Werten, und das Chlorhydrat lieferte ebenso wie die Kutschersche Base in sodaalkalischer Lösung die Diazoreaktion, und zwar tritt die Färbung merklich langsamer auf, als dies beim Histidin selbst der Fall zu sein pflegt. Es kann nicht auffallen, daß diese Base, welche gegen Goldchlorid sich zweibasisch verhält, ein Monopikrat liefert. Dasselbe ist ja der Fall bei vielen anderen Basen, welche sowohl Mono- als Dipikrate liefern. Übrigens neigt der Körper sehr zur Bildung von nicht normalen Goldsalzen. Schon das erst analysierte Goldsalz war nicht normal zusammengesetzt, und später wurde noch ein anderes Goldsalz erhalten, das in flachen gelben Blättern krystallisierte und 34,6 % Au enthielt: 0,2372 g gaben 0,0822 g Au. Dieses Goldsalz konnte durch Umkrystallisieren aus verdünnter HCl unter Zusatz von etwas Goldchlorid in die orangefarbenen Spieße mit normalem Goldgehalt übergeführt werden.

Während jedoch Kutscher die Base, welche nach ihm ein Trimethylhistidin sein kann, in der Lysinfraktion auffand, und sie also den Silberfällungen entgangen war, fand ich sie in der Argininfraktion, und zwar wurde sie zweimal mit Silbernitrat und Baryt ausgefällt. Kutscher hebt selbst hervor, daß es auffallend ist, daß ein Histidinderivat nicht durch Silbernitrat und Baryt gefällt werden sollte.

Es stellte sich die Frage, ob diese Base identisch ist mit dem Histidinbetain, das Barger und Ewins (l. c.) durch

Entschwefelung des Ergothionins mittels Ferrichlorid erhielten. Es scheint das nicht der Fall zu sein, da die genannten Autoren den Schmelzpunkt ihres Dipikrates zu 123° angeben, während ich bei einem Pikrat, das durch Fällen der Lösung der Chloride mit Natriumpikrat gewonnen war und welches nach der Pikrinsäurebestimmung ein Dipikrat ist, den Schmelzpunkt bei 205° fand.

Lysinfraktion.

Die in bekannter Weise aus dem Phosphorwolframsäure-niederschlag erhaltene Lösung der Chloride wurde eingeengt und über Schwefelsäure stehen gelassen, wobei ein zäher, brauner Sirup entstand. Er war zum größten Teil in absolutem Alkohol löslich. Diese Lösung wurde mit überschüssiger, alkoholischer Sublimatlösung versetzt, wobei eine schmierige Fällung entstand, welche nach längerem Stehen abfiltriert und getrennt von einer später entstandenen, feinkörnigen, heller gefärbten Abscheidung verarbeitet wurde. Beide wurden aus heißem Wasser unter Zusatz von etwas Quecksilberchlorid umkrystallisiert.

Die zwei aus der letzteren Abscheidung gewonnenen Quecksilberdoppelsalzfraktionen wurden mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Chloride getrocknet und in absolutem Alkohol gelöst. Beim Versetzen der ersten Fraktion mit alkoholischer Platinchloridlösung trat eine amorphe gelbliche Fällung auf, welche abgesaugt und mit Wasser digeriert wurde. Der wasserlösliche Teil der Platinfällung wurde von einem geringen braunen, unlöslichen Rückstand abfiltriert und lieferte beim Stehen über Schwefelsäure derbe Krystallaggregate, die aber von einer beigemengten feinkörnigen Abscheidung nicht gut zu trennen waren. Rasch erhitzt schmolzen sie gegen 245° . Zur Reinigung wurden sie mit Schwefelwasserstoff zersetzt, und die erhaltenen zerfließlichen Chloride in das Goldsalz übergeführt, welches sich auf Zusatz von Goldchlorid in Flocken abschied und aus verdünnter Salzsäure umkrystallisiert schlanke, rhombenähnliche Blättchen bildete, die rasch erhitzt bei 254° unter Zersetzung schmolzen. Beim Trocknen dieses

Präparates für die Analyse wurde der Vakuumexsikkator an der Wasserstrahlpumpe eingedrückt, wobei die Substanz zerstört wurde. Aus der eingeengten Mutterlauge wurde jedoch auf Zusatz von Goldchlorid noch eine geringe Menge desselben Körpers erhalten. Diese Krystalle zeigten unter dem Mikroskop dieselben Formen wie die aus der ersten Krystallisation und schmolzen unter Zersetzung bei 257° , während ein gleichzeitig erhitztes Vergleichspräparat von Cholingoldchlorid aus der Sammlung unseres Laboratoriums bei 256° sich zersetzte und schmolz. Es wurde zur Analyse mit einer ganz geringen Menge eines Präparates vereinigt, das aus der wasserlöslichen Platinfällung der Chloride aus der schmierigen Quecksilberfällung gewonnen war und dieselbe Krystallform sowie den gleichen Zersetzungspunkt zeigte.

0,1732 g gaben 0,0772 g Au = 44,57% Au.

Berechnet für Cholingoldchlorid, $C_5H_{14}NOAuCl_4$: 44,50% Au.

Die zweite Fraktion der Quecksilberdoppelsalze bestand noch aus der Cholinverbindung, wie die Analyse des Goldsalzes zeigt:

0,1545 g gaben 0,0688 g Au = 44,53% Au.

Es zersetzt sich gegen 258° . Weitere Fraktionen der Fällung mit Goldchlorid lieferten ebenfalls auf Cholin stimmende Werte:

0,1194 g gaben 0,0532 g Au = 44,56% Au

0,1834 » » 0,0815 » Au = 44,43% Au.

Die aus der schmierigen, braunen Quecksilberfällung gewonnenen Chloride wurden mit absolutem Alkohol aufgenommen und so von einer geringen Menge unlöslichen Rückstandes befreit. Die Lösung wurde mit alkoholischem Platinchlorid versetzt, und die entstandene Fällung mit Wasser behandelt, wobei sie bis auf einen geringen braunen Rückstand in Lösung ging. Die Lösung wurde noch mit etwas Salzsäure versetzt und über Schwefelsäure stehen gelassen, wobei sich allmählich das Platinsalz in blättrigen Drusen ausschied. Daneben trat wieder eine heller gefärbte, feinkörnige Abscheidung auf. Beim Umkrystallisieren und Einengen schied sich ein Öl ab, das beim Reiben krystallinisch erstarrte. Unter dem Mikro-

skop wurden kreuzförmig angeordnete kurze Prismen beobachtet, die rasch erhitzt sich bei 267° zersetzten.

Das Chloroplatinat wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Goldsalz dargestellt. Ein Teil hiervon war selbst in kochendem Wasser unlöslich, löste sich hingegen in verdünnter heißer Salzsäure, woraus er sich beim Erkalten und Stehen in zentimeterlangen gelben Prismen abschied, die gegen 175° sintern und bei 185° unter Zersetzung schmelzen.

0,1337 g gaben 0,0606 g Au = 45,32% Au.

Das Chlorid zeigte die Histidinreaktion mit Diazobenzolsulfosäure, und es besteht kein Zweifel, daß es identisch ist mit dem Trimethylhistidin, das aus dem in Wasser leicht löslichen Teile der Quecksilberfällung erhalten wurde, und von dem weiter unten die Rede sein wird. Aus der Mutterlauge des Chloroplatinats wurde ein zerfließliches Chlorid erhalten, das durch das Goldsalz als Cholin identifiziert wurde.

0,1387 g gaben 0,0620 g Au = 44,70% Au

0,1894 » » 0,0846 » Au = 44,67% Au.

Die beim Umkrystallisieren der Quecksilberchloriddoppelsalze zurückgebliebenen Mutterlaugen schlossen noch eine nicht unbeträchtliche Menge stickstoffhaltiger Substanz ein. Sie wurden mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat auf dem Wasserbad eingedampft, mit Tierkohle entfärbt, und die nur schwach gelblich gefärbte Lösung wieder eingedunstet. Der so erhaltene Sirup wurde im Vakuumexsikkator scharf getrocknet, die glasartig erstarrte Masse mit absolutem Alkohol aufgenommen und diese Operationen zweimal wiederholt. Die Chloride bildeten einen schwach gelb gefärbten Sirup, der nicht zum Krystallisieren gebracht werden konnte. Mit Kaliumtrijodid entstand sowohl in saurer als auch in alkalischer Lösung eine Fällung. Die Diazoreaktion in sodaalkalischer Lösung war positiv. Mit wässriger Platinchloridlösung entstand nicht sofort eine Fällung, doch schieden sich nach einigem Stehen flache Krystalle aus. Das Goldsalz war schwerer löslich. Es fiel auf Zusatz von Goldchlorid flockig aus, löste sich aber nach Zugabe von etwas Salzsäure beim Erwärmen. Beim Erkalten fiel ein Öl aus, das aus verdünnter Salzsäure umkrystallisiert wurde. Nach längerem

Stehen traten drusig verwachsene derbe Prismen auf. Da sich daneben etwas Gold abgeschieden hatte, wurde das Salz wieder umkrystallisiert. Die ersten Fraktionen besaßen einen wechselnden Goldgehalt, von 43,4 bis 40,8% Au. Erst nach mehrfachem Umkrystallisieren und besonders nach weiterem Zusatz von Goldchlorid gelang es, ein sehr schön krystallisierendes einheitliches Goldsalz zu erhalten. Dieses bildete zentimeterlange, fast orange gefärbte Nadeln, die bei 183° schmolzen und also vollständig dem Trimethylhistidingoldsalz aus der Argininfraktion glichen. Die Analyse ergab den gleichen Gold- und Chlorgehalt.

0,1545 g gaben 0,0694 g Au = 44,92% Au
und 0,2001 g AgCl = 32,02% Cl.

Trimethylhistidingoldchlorid verlangt: 44,96% Au = 32,33% Cl.

Die Goldbestimmung geschah auf indirektem Wege durch Fällen mit Schwefelwasserstoff. Der Überschuß wurde durch Erwärmen auf dem Wasserbade vertrieben und im Filtrat das Chlor bestimmt.

Die folgenden Fraktionen zeigten ebenfalls zuerst einen zu niedrigen Goldwert, der sich aber sofort nach dem Regenerieren der Golddoppelsalze aus den bei der indirekten Au-Bestimmung erhaltenen Chloriden auf den konstanten Wert von 45% einstellte.

Es folgen die Analysen der einzelnen Fraktionen:

- | | | | | | | | |
|------|----------|-------|----------|---------------|-----|-------|----------|
| II. | 0,2591 g | gaben | 0,1165 g | Au = 44,96% | Au. | FZp.: | 184—185° |
| III. | 0,1160 | » | 0,0524 | » Au = 45,14% | Au. | » | 183° |
| IV. | 0,1736 | » | 0,0782 | » Au = 45,05% | Au. | » | 183—184° |
| V. | 0,1415 | » | 0,0638 | » Au = 45,09% | Au. | » | 183°. |

Es wurde insgesamt etwa 1 g des Goldsalzes in analysenreinem Zustande erhalten. Aus dem Chlorid wurde mittels Natriumpikrat das schon erwähnte Dipikrat erhalten, welches bei 205—206° schmilzt.

Was das von Yoshimura in der Argininfraktion des Wasserextraktes aus Steinpilz aufgefundene Trimethylamin angeht, so konnte ich diese Base überhaupt nicht erwarten, da bei der Austreibung des Ammoniaks bei der Zersetzung

des Phosphorwolframsäureniederschlags, eine so leicht flüchtige Base wie Trimethylamin auch vertrieben werden mußte. In der Tat gewann ich durch Auffangen in verdünnter Salzsäure neben viel Ammonchlorid ein in Alkohol lösliches, zerfließliches Chlorid, welches ein ziemlich schwer lösliches Goldsalz gab, in federartigen Gebilden krystallisierend. Es schmolz gegen 245° unter Zersetzung. Die Menge war nur sehr gering, jedoch konnte eine Goldbestimmung ausgeführt werden:

0,1101 g gaben 0,0546 g Au = 49,59% Au

Berechnet für: $C_3H_9N \cdot HAuCl_4 = 49,41\%$ Au.

Es findet sich somit eine geringe Menge von Trimethylamin im Steinpilz, das beim Vertreiben des Ammoniaks ebenfalls mit ausgetrieben wird.

Untersuchung des Wasserextraktes von 1800 g trockenem *Boletus edulis*.¹⁾

Wie schon erwähnt, waren 5% des Extraktes zu quantitativen Bestimmungen zurückbehalten worden. Hierin wurde zunächst die gelöste organische Trockensubstanz bestimmt.

Gelöste Substanz in 50 ccm, bei 105° trocken: 0,6000 g

Asche: 0,1067 »

Gelöste organische Trockensubstanz: 0,4933 »

Daraus berechnet sich für den gesamten Wasserextrakt (42650 ccm): 421 g für die gelöste organische Trockensubstanz.

Der Gesamtstickstoff wurde in 100 ccm, entsprechend 0,9866 g organische Trockensubstanz, nach der Kjeldahlschen Methode bestimmt. Für die gelöste organische Trockensubstanz berechnet sich ein Gehalt von 4,97% N. Insgesamt waren mit Wasser in Lösung gegangen: 20,9 g N, oder etwa $\frac{1}{3}$ des gesamten in dem Ausgangsmaterial enthaltenden Stickstoffs.

Um einen Anhaltspunkt für die Bindungsart dieses Stickstoffs zu gewinnen, wurde die N-Verteilung bestimmt:

Protein-N nach Stutzer: 2,1 %

Durch Phosphorwolframsäure fällbarer N: 1,86%.

Zieht man den Protein- und Basen-N vom Gesamt-N (4,97%) ab, so erhält man den weder durch Kupferhydroxyd,

¹⁾ Vgl. S. 187.

noch durch Phosphorwolframsäure fällbaren N, der auch den Aminosäuren-N einschließt.

Die hohe Zahl für den Protein-N ist überraschend. Es berechnet sich daraus 8,8 g Protein-N im Wasserextrakt, und legt man den Faktor 6,25 für die Berechnung des Proteingehaltes zugrunde, so findet man, daß der Wasserextrakt von 1800 g *Boletus* ca. 53 g wasserlösliche Proteinkörper enthält. Dieses Resultat widerspricht allen Beobachtungen, die Zellner und andere über das lösliche Pilzeiweiß machten. So gibt Zellner¹⁾ an, daß er aus trockenem, mit Petroläther-extrahiertem Fliegenpilzpulver mit kaltem Wasser nur sehr wenig Eiweiß in Lösung bekam, das beim Kochen sich in Häuten ausschied. Ich stellte nun die gewöhnlichen Eiweißreaktionen an, welche jedoch negativ ausfielen, woran vielleicht die dunkle Farbe der Lösungen schuld sein mag. Andererseits ist auch die Vermutung nicht von der Hand zu weisen, daß es peptonartige, biuretfreie Substanzen sind, welche jedoch noch durch Kupferhydroxyd gefällt werden, oder aber Körper der Purinreihe.

Pentosengehalt des Wasserextraktes.

Über den Gehalt höherer Pilze an löslichen Pentosen ist noch nichts bekannt. Man weiß von den holzbewohnenden Pilzen, daß sie die Zellmembranen des Holzes aufzulösen imstande sind, sodaß die Zersetzungsprodukte resorbiert werden können. Schorstein²⁾ gibt an, daß die hierbei entstehenden Pentosen assimiliert werden. Zellner³⁾ erhielt aus einem Baumschmarotzer, *Trametes suaveolens* Fr., durch Kochen mit verdünnter HCl ein Destillat, das die Furfurolreaktionen lieferte (Fichtenspanreaktion, Rotfärbung mit Anilinacetatpapier, Phloroglucinreaktion). Auch *Polyporus ignarius* Fr.,⁴⁾ ein anderer holzbewohnender Pilz, verhält sich ebenso, woraus Zellner auf die Anwesenheit von Pentosanen schließt. Da nun die Phloroglucinsalzsäure-

¹⁾ Zellner, Sitzungsber. d. kaiserl. Akademie d. Wissenschaften, Wien, Bd. 115, Abt. 2 b, 1906.

²⁾ Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. 9, S. 446 (1902).

³⁾ Wiener Monatsh. (1907), S. 1285.

⁴⁾ Wiener Monatsh. (1908), S. 772.

reaktion auf Pentosen, welche ich im Wasserextrakt von *Boletus edulis* anstellte, positiv ausfiel, so bestimmte ich quantitativ die Menge des Furfurols, wenn auch diese Untersuchung eigentlich nicht in den Rahmen dieser Arbeit gehört. Ich arbeitete dabei nach der Furfurolsalzsäuredestillationsmethode von Tollens.¹⁾ Erhalten wurden aus 100 ccm Extrakt nach 11 Destillationen: 0,0340 g Furfurolphloroglucid, das nach der Kröberschen Tabelle 0,0398 g Pentose entspricht. Demnach enthält der gesamte Wasserextrakt (42650 ccm) ca. 16,9 g Pentose = ca. 1% der Trockensubstanz. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die furfurol-liefernde Substanz ein Pentosid ist.

Wie schon erwähnt, wurde der Wasserextrakt aus 1800 g *Boletus edulis* sofort nach seiner Gewinnung mit Bleiessig ausgefällt.

Phosphorwolframsäurefällung.

Das klare gelblich gefärbte Filtrat wurde mit Schwefelsäure annähernd 5%ig gemacht, vom Bleisulfat abfiltriert und eine 50%ige Phosphorwolframsäurelösung zugesetzt, solange noch eine Fällung entstand. Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abgenutscht und in der schon erwähnten Weise aufgearbeitet.

Alloxurbasenfraktion.

Sie wurde in der gleichen Weise wie die entsprechende Fraktion aus dem Alkoholextrakt verarbeitet.

Guaninfraktion. Die bräunlich gefärbten Purinbasenchloride wurden mit etwas Wasser schwach erwärmt und nach mehrstündigem Stehen wurde eine geringe Menge ungelöster Substanz abfiltriert. Das braune Filtrat wurde mit Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt, wobei ein gelblichbrauner, feinkörniger Niederschlag entstand. Er wurde nach längerem Stehen abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen, und da er ein bräunliches amorphes Pulver bildete, wurde er zur Reinigung aus sehr viel heißem Wasser um-

¹⁾ Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden, Bd. 2, S. 130.

gelöst. Beim Erkalten schied sich ein gelbbraunes Pulver ab, das keine deutliche Krystallform zeigte. Die Weidelsche Probe (Lösen in wenig Salzsäure und Abdampfen nach Zusatz von Kaliumchlorat, wonach der Rückstand in einer Ammoniakgasatmosphäre schöne Rotfärbung zeigt) fiel + aus (Xanthin, Cytosin und Uracil zeigen diese Probe). Die Diazobenzolsulfosäurereaktion in sodaalkalischer Lösung fiel + aus, es entstand eine intensiv rot gefärbte Lösung, die auch nach starkem Verdünnen mit Wasser ihre rein rote Farbe behielt. Die Menge der trockenen Substanz betrug 0,3 g. Sie war in kaltem Wasser fast unlöslich, in viel heißem Wasser löslich. Zur weiteren Reinigung wurde sie nun mit 1%iger Essigsäure ausgekocht, wobei der größte Teil in Lösung ging. Epiguanin ist in 1%iger Essigsäure löslich und kann auf diese Weise vom Guanin getrennt werden, das in Essigsäure dieser Konzentration nur schwer löslich ist. Der ungelöste Rückstand ging mit verdünnter Natronlauge leicht in Lösung, und auf Zusatz von Essigsäure bis zur sauren Reaktion wurde wieder eine Fällung erhalten, die in salzsaurer Lösung mit Metaphosphorsäure eine flockige Fällung gab, unlöslich in überschüssiger Säure, löslich in Natronlauge. Die Fällung zeigte unter dem Mikroskop ein membranöses Aussehen. Die Mutterlauge vom Umkrystallisieren des Guanins aus heißem Wasser gab diese Metaphosphorsäureverbindung nicht. Die Fällbarkeit durch Metaphosphorsäure ist charakteristisch für das Guanin. Wulff¹⁾ gibt an, daß Adeninmetaphosphat in einem Überschuß von Säure gelöst wird, und Hypoxanthin überhaupt keine schwer lösliche Metaphosphorsäureverbindung liefert. In schwach saurer Lösung entstand auf Zusatz von etwas Natriumpikrat ein seidenartig glänzender Niederschlag von goldgelber Farbe, bestehend aus feinen, meist radial angeordneten Nadelchen. Doch war die Menge für eine Analyse nicht ausreichend. Im Kapillarrohr erhitzt, wurde gegen 110° Aufhellung der Farbe beobachtet. Bei 190° beginnt die Zersetzung, doch war die Probe selbst bis 300° nicht geschmolzen. Genau dieses Verhalten beschreibt Wulff (l. c.) für Guaninpicrat.

¹⁾ Wulff. Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 504.

Das Auftreten der Weidelschen Probe deutet darauf hin, daß das Guanin mit etwas Xanthin verunreinigt war.

Adeninfraktion. Das ammoniakalische Filtrat vom ausgeschiedenen Guanin wurde durch Erhitzen vom Ammoniak befreit, mit Pikrinsäure ausgefällt, und der voluminöse Niederschlag aus Wasser umkrystallisiert.

Die erhaltenen großen Krystalle bestanden jedoch aus Ammonpikrat, das aus dem Ammonchlorid her stammt, welches bei der Guaninfällung mit Ammoniak aus der stets vorhandenen freien Salzsäure entsteht.

Aus dem in 1%iger Essigsäure löslichen Teil der Guaninfällung, der kein Guanin mehr enthielt (Ausbleiben der Fällung mit Metaphosphorsäure in saurer Lösung) wurde ein krystallinisches Sulfat erhalten, woraus mit Natriumpikratlösung beim Erkalten ein in den für Adeninpikrat am häufigsten beobachteten feinen Nadelchen sich abscheidendes Pikrat gewonnen wurde. Es wurde abgesaugt und an der Luft getrocknet, wobei ich eine seidenglänzende verfilzte Masse erhielt, genau so wie Bruhns¹⁾ das Adenin beschreibt.

Fp.: 278°, Zp.: 282° (unkorr.). Die Analyse der bei 105° getrockneten Substanz ergab folgendes Resultat:

0,1205 g lieferten 35,2 ccm N bei 725 mm und 26° C.

Berechnet für Adeninpikrat, $C_{11}H_8O_7N_8$: 30,78% N

Gefunden: 30,71% N.

Aus den beim Umlösen des Guanins mit Wasser erhaltenen Mutterlaugen wurde mit Pikrinsäure in geringer Menge ein vollkommen ähnliches Pikrat erhalten, das ebenfalls feine, büschelförmig angeordnete Nadelchen darstellte, bei 278° schmolz und sich bei 280° zersetzte. Es war somit ebenfalls Adeninpikrat, und demnach war bei der Ausfällung des Guanins mit Ammoniak auch die Hauptmenge des Adenins mitgefällt worden.

Hypoxanthinfraktion. Das Filtrat von der Pikrinsäurefällung wurde mit Schwefelsäure versetzt und durch mehrfaches Ausschütteln mit Benzol von Pikrinsäure befreit. Dann wurde etwas eingeeengt, mit Ammoniak neutralisiert und ammoniakalische

¹⁾ Bruhns, Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 536.

Silbernitratlösung zugesetzt. Die Fällung wurde mit kaltem Wasser gewaschen und nach Zusatz von etwas Salpetersäure mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Schwefelsilber wurde eingeengt, wobei sich sternförmig angeordnete schlanke Prismen und kugelige tonnenförmige Gebilde ausschieden. Nun wurde nochmals über die Silberverbindung gereinigt. Nach dem Zersetzen derselben mit Schwefelwasserstoff wurde das Filtrat eingedunstet, mit 10%iger Salpetersäure aufgenommen, und nach einigem Stehen über Natronkalk schieden sich schön ausgebildete wetzsteinförmige Krystalle ab, meist einzeln, manchmal auch zu sternförmigen Gruppen vereinigt. Diese Krystallform gilt als charakteristisch für Hypoxanthinnitrat. Die eingangs erwähnten tonnenförmigen Gebilde soll das Hypoxanthinnitrat beim raschen Auskrystallisieren liefern.

Histidinfraktion.

Die Aufarbeitung dieser Fraktion geschah genau, wie schon bei der betreffenden Fraktion aus dem Alkoholextrakt beschrieben. Es krystallisierte jedoch nichts aus. Der Sirup wurde daher mit etwas alkoholischer Pikrolonsäurelösung versetzt, die entstandene Fällung abgesaugt und aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Die Krystalle waren gelb gefärbt und schmolzen bei 222—223°. Dieser Schmelzpunkt stimmt zwar ziemlich gut auf Histidinpikrolonat, jedoch zeigte der oben erwähnte Sirup von Histidinreaktionen nur die Paulysche Diazobenzolsulfosäurereaktion.

Argininfraktion.

Auch diese Fällung wurde in bekannter Weise verarbeitet. Da kein Arginnitrat auskrystallisieren wollte, so wurde der Sirup mit nach Heintz dargestelltem Kupferhydroxyd gekocht und das Filtrat eingeengt. Aber auch so konnten keine Krystalle erhalten werden. Daher wurde der grünblaue Sirup mit Wasser aufgenommen und durch Einleiten von Schwefelwasserstoff entkupfert. Das Filtrat wurde neuerdings eingeengt und mit Natriumpikrat ausgefällt. Der Niederschlag wurde durch Erwärmen wieder in Lösung gebracht, die beim Erkalten auftretende Krystallisation abgesaugt und zweimal umkrystallisiert.

Es wurde auf diese Weise eine ganz geringe Menge schöner hellgelber Plättchen erhalten, von rechteckiger Form, welche bei 206—207° schmolzen, neben feinen verfilzten Nadelchen, die bei 201° schmolzen, die Diazoreaktion zeigten und auch dem ganzen Aussehen nach identisch sind mit dem aus Alkohol-extrakt in größerer Menge erhaltenen Trimethylhistidin-pikrat.

Aus der Mutterlauge schieden sich beim Einengen tiefgelbe Krystalle ab, schmale Plättchen, oft in Knieform zusammengewachsen und gezähnt, vom Zersetzungspunkt: 312—314°. Ein Präparat von Guanidin-pikrat unserer Sammlung schmolz gleichzeitig und ebenso eine Mischprobe. Auch beim Zerreiben auf der Tonplatte zeigten beide Präparate denselben matten Glanz und machten beim Zerdrücken den Eindruck eines weichen Körpers wie Stearin. Wenn auch keine Analyse ausgeführt werden konnte, so sprechen doch Darstellung aus der Arginin-fraktion, Zersetzungspunkt, Krystallform und ganzes Verhalten dafür, daß Guanidin-pikrat vorliegt.

Lysinfraktion.

Aus dem Filtrat der Silberfällungen wurde das gelöste Silber mit Salzsäure, das überschüssige Baryum mit Schwefelsäure entfernt und die Basen mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit Baryt zerlegt und die Basenlösung mit alkoholischer Pikrinsäure versetzt. Die Abscheidung wurde mit Alkohol gewaschen und aus heißem Wasser umkrystallisiert. Die Menge dieser Fraktion betrug etwas über 1 g. Das Pikrat schmolz bei 210°. Beim Einengen des Filtrates wurde eine zweite Fraktion erhalten, welche gegen 250° sich zersetzt.

Fraktion I wurde mit Salzsäure zerlegt und die Pikrinsäure ausgeäthert. Die Chloride bildeten nadelige Prismen, nicht zerfließlich und unlöslich in absolutem Alkohol. Die wässrige Lösung wurde mit Goldchlorid versetzt und die Fällung durch Erwärmen wieder gelöst. Das Goldsalz krystallisierte in orange-gelben Gebilden, die ein ölig erstarrtes Aussehen besaßen: Es schmolz bei 224°. Eine Goldbestimmung nach Trocknen im Vakuumexsikkator und bei 55° ergab folgendes Resultat:

0,1179 g lieferten 0,0596 g Au = 50,55% Au.

Während der Goldgehalt auf Pentamethyldiamin stimmen würde, liegt der Schmelzpunkt dafür etwa 40° zu hoch. Es wurde daher aus verdünnter Salzsäure mehrmals umkrystallisiert, bis sich einheitliche Nadelchen ausschieden, die sich unter dem Mikroskop aus einzelnen Krystallen zusammengesetzt erwiesen und dadurch gezackt erschienen. Nach dem Trocknen bei 100° wurde der Goldgehalt bestimmt:

0,1592 g gaben 0,0816 g Au = 51,29% Au.

Es schmolz bei 230° und war ziemlich schwer löslich in kaltem Wasser. Das Chlorid zeigte beim trocknen Erhitzen die Pyrrolreaktion: Ein mit konzentrierter Salzsäure befeuchteter Fichtenholzspan rötet sich beim Hineinbringen in die Dämpfe, welche beim trocknen Erhitzen des salzsauren Salzes entstehen. Dieses Verhalten, sowie der Goldgehalt stimmen auf Tetramethyldiamin oder Putrescin, dessen Goldsalz: $C_4H_{12}N_2 \cdot 2HAuCl_4$ = 51,34% Au verlangt. Sein Chlorhydrat liefert bekanntlich bei der trocknen Destillation Pyrrolidin, worauf die Rötung des Fichtenholzspanes zurückzuführen ist. Mit Nessler'schem Reagens gibt meine Base ebenso wie Putrescin eine gelbliche Fällung, und es tritt spermaähnlicher Geruch auf. Das Platinsalz krystallisierte in Drusen gelblicher Blättchen und enthielt 39,21% Pt.

0,1275 g gaben 0,0500 g Pt = 39,21% Pt.

Berechnet für: $C_4H_{11}N_2PtCl_6$: 39,14% Pt.

Fraktion II, welche sich gegen 250° zersetzte, wurde ebenfalls in das Chlorid verwandelt und mit Tierkohle entfärbt. Mit Goldchlorid wurde ein in Nadelchen krystallisierendes Goldsalz erhalten von gleichem Aussehen, wie das aus dem ersten Pikrat. Das exsikkatortrockene Präparat ergab bei der Analyse folgendes Resultat:

0,1338 g gaben 0,0658 g Au = 49,18% Au

0,3806 » » 0,1864 » Au = 48,95% Au.

Berechnet für: $C_4H_{12}N_2 \cdot 2HAuCl_4 + 2H_2O$: 49,04% Au.

Die Werte stimmen also auf wasserhaltiges Putrescinchloraurat. Das Chlorid krystallisiert in feinen Nadeln, ist nicht

zerfließlich, unlöslich in absolutem Alkohol. Mit Nesslerischem Reagens entsteht ein schwachgelb gefärbter Niederschlag und dabei tritt Geruch nach Sperma auf. Die Pyrrolreaktion ist positiv. Aus den zurückgewonnenen Chloriden wurde von neuem das Goldsalz gemacht, aber diesmal für die Analyse bei 105° getrocknet:

0,2194 g gaben 0,1128 g Au = 51,41% Au.

Dieser Wert stimmt auf das wasserfreie Goldsalz des Putrescins. Auch das in Drusen kleiner gelber Blättchen kristallisierende Platinsalz gab bei der Analyse einen auf Putrescin stimmenden Wert:

0,1935 g gaben 0,0758 g Pt = 39,17% Pt.

Berechnet: 39,14% Pt.

Es liegt demnach Putrescin oder Tetramethyldiamin vor, und zwar scheint die Fraktion II schon reines Putrescin-pikrat gewesen zu sein, wie auch aus dem Zersetzungspunkt hervorgeht.

Das Filtrat des Phosphorwolframsäure-Niederschlages.

Hierin befindet sich eine nicht unbeträchtliche Menge löslicher N-Körper. Bei der quantitativen Bestimmung der N-Verteilung war etwa $\frac{1}{3}$ des im Wasserextrakt vorhandenen N in das Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlages gegangen. In der Annahme, daß dieser N wohl größtenteils auf Rechnung der Aminosäuren zu setzen ist, die ja allgemein im Eiweißstoffwechsel der Pflanzen auftreten, versuchte ich mit Hilfe der Estermethode von E. Fischer die Aminosäuren darzustellen.

Zu diesem Zwecke wurde das Phosphorwolframsäurefiltrat mit heißer gesättigter Barytlösung versetzt; solange noch ein Niederschlag entstand, und so die Schwefelsäure und überschüssige Phosphorwolframsäure entfernt. Die Reaktion des Filtrates war durch die aus dem Bleiessig stammende Essigsäure noch sauer, und eine gewisse Menge Baryum war als Acetat in Lösung, was aber für die folgende Behandlung nicht weiter von Belang war. Die Lösung wurde in großen

Porzellanschalen auf dem Wasserbade, endlich im Vakuum bei 40—45° und 17 mm Druck zum dicken Sirup eingengt, der schwache Millonsche Reaktion zeigte und Fehlingsche Lösung kräftig reduzierte. Der Sirup wurde mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols übergossen und mit trockenem Salzsäuregas gesättigt. Die Flüssigkeit erwärmte sich dabei stark und wurde nach dem Erkalten durch Asbest filtriert, um die anorganischen Chloride, besonders Baryumchlorid zu entfernen. Nach den Angaben Abderhaldens¹⁾ wurde die dunkle Flüssigkeit wieder im Vakuum eingengt und noch 2mal verestert. Bevor nun die Ester nach E. Fischer gewonnen wurden, ätherte ich die saure Lösung einigemal aus, um sie von den Estern der N-freien organischen Säuren zu befreien. Nun wurden die Aminosäureester mit Natronlauge unter Zusatz von festem Kaliumcarbonat in bekannter Weise in Freiheit gesetzt, mit Äther ausgeschüttelt, und die Temperatur des Gemisches möglichst niedrig (ca. —8°) gehalten.

Die ätherische Lösung wurde über Nacht mit ausgeglühtem Natriumsulfat getrocknet und der Äther auf dem Wasserbade bei möglichst niedriger Temperatur abdestilliert. Die letzten Reste wurden dann im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur entfernt. Es blieb wider Erwarten nur sehr wenig Rückstand, der beim Fraktionieren folgende Anteile lieferte:

Fraktion	Temperatur	Druck	Gewicht
1	bis 80°	8 mm	1 g
2	» 120°	»	0,2 g
3	» 200°	»	1 g

Schon beim Übergehen des zweiten Destillates bildeten sich weiße Nebel, und das dritte war schon gelb gefärbt.

Fraktion 1 und 2 wurden vereinigt und mit Wasser am Rückflußkühler zur Verseifung solange gekocht, bis die alkalische Reaktion verschwunden war. Die Lösung wurde zur Trockne eingedunstet und der weiße Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht. Beim Eindunsten der alkoholischen Lö-

¹⁾ Abderhalden, Biochem. Arbeitsmethoden. Bd. 2.

sung blieb eine geringe Menge sirupösen Rückstandes, der ein alkohollösliches, amorphes Cu-Salz lieferte, das beim trocknen Erhitzen ganz deutlich eine schöne Pyrrolreaktion gab. (Röten eines mit konzentrierter Salzsäure befeuchteten Fichtenspanes.) Zur Analyse reichte die Menge des Cu-Salzes nicht aus, aber aus obigem Verhalten geht doch mit einiger Wahrscheinlichkeit hervor, daß Pyrrolidincarbonensäure vorlag.

Der alkoholunlösliche Teil, bei weitem die Hauptmenge, wurde durch Kochen mit nach Heintz dargestelltem Kupferhydroxyd in die Kupfersalze verwandelt. Schon beim Filtrieren der heißen Lösung schieden sich blaßblaue, sehr schwer lösliche Blättchen ab, welche das charakteristische Aussehen des Leucinkupfers besaßen. Nach weiterem Eindunsten schieden sich neben dem blaßblauen Leucin dunkelblaue Krystalle ab, wahrscheinlich Alaninkupfer. Ihre geringe Menge ließ keine Cu-Bestimmung zu. Die eingedunstete Mutterlauge hinterließ einen tiefblauen krystallinischen Rückstand, der 27,97% Cu enthielt.

0,2261 g lieferten 0,0791 g CuO. Es stellt also wohl ein Gemenge von viel Alanin- mit etwas Glykokollkupfer dar.

Fraktion 3 wurde in Wasser gelöst und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde wieder durch Schütteln mit Wasser gewaschen, der Äther abgedunstet und der bräunliche Sirup mit konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbad zur Verseifung nochmals abgeraucht. Der geringe Rückstand erstarrte hierbei zu einem Krystallbrei und wurde durch Stehen über Natronkalk im Vakuum möglichst von Salzsäure befreit. Dann wurde er mit wenig Wasser aufgenommen, mit einigen Tropfen konzentriertem Ammoniak schwach alkalisch gemacht und Alkohol zugesetzt. Die kleine Menge ausgeschiedener Substanz wurde abfiltriert. Sie gab die von E. Fischer angegebene Reaktion auf Phenylalanin: Beim Erhitzen mit 20%iger Schwefelsäure und einem Körnchen Kaliumbichromat war deutlich der Geruch nach Phenylacetaldehyd wahrnehmbar.

Der ätherunlösliche Teil wurde mit Barytwasser verseift und auf Asparagin- und Glutaminsäure untersucht. Aus den ausgeschiedenen Baryumsalzen konnte durch Zersetzen mit Schwefelsäure, quantitatives Ausfällen der überschüssigen

Schwefelsäure mit Baryt und Einengen eine kleine Menge gelblichgefärbter Krystalle erhalten werden, welche aschefrei waren und sich bei 238° zersetzten.

**Untersuchung des Wassereextraktes aus 2500 g trockenem
Boletus edulis.**

Die Verarbeitung dieses Extraktes geschah in etwas anderer Weise als beim ersten aus 1800 g.

Alkoholfällung.

Zunächst wurde der Extrakt mit etwas mehr als dem halben Volumen Alkohol versetzt. Dabei entstand ein flockiger, schleimiger Niederschlag, der durch ein Koliertuch abfiltriert wurde. Er wurde dann unter 95%igen Alkohol gebracht, der durch absoluten und endlich durch Äther ersetzt wurde. Auf diese Weise wurden bräunliche Krümel erhalten, die lufttrocken 132 g wogen. In einer Probe des Filtrates entstand auf weiteren Alkoholzusatz eine geringe Fällung, die aber ein anderes Aussehen besaß als die erste. Sie haftete als schmierige braune Masse an den Gefäßwänden, und die Ausfällung wurde daher nicht mehr weiter getrieben. Hofmann¹⁾ hatte auf ganz ähnliche Weise einen Körper erhalten, der lufttrocken 4,01% N und 2,43% P enthielt. Durch Dialyse gelang es ihm, den Phosphorgehalt bis auf 0,52% herunterzubringen, während der Stickstoffgehalt noch 3,66% betrug. Erst wenn er das Präparat 10 Stunden lang mit 10%iger Schwefelsäure kochte, trat Reduktion ein, und mit Phosphorwolframsäure entstand eine Fällung, die nach ihrer Zerlegung Biuretreaktion zeigte. Schon Boudier²⁾ hat auf demselben Wege aus verschiedenen Pilzen einen ähnlichen Körper dargestellt, den er Viscosin nannte. Zellner³⁾ prüfte die Angaben Boudiers nach und fand, daß der Körper durchaus nicht einheitlich ist, sondern anorganische und N-Substanzen einschließt. Der von mir erhaltene Körper bildete bräunlich-graue Krümel, welche sich im Mörser unschwer

¹⁾ Dissertation, S. 79.

²⁾ Die Pilze, 1867.

³⁾ Monatsh. f. Chem., 1906, S. 113.

zu einem Pulver zerreiben ließen, das trocken 4,25% N enthielt. In Wasser quoll die Substanz zu einer dickflüssigen, schleimigen, kolloidalen Lösung auf, die deutliche Opalescenz besaß. Ein sehr kleiner Teil bleibt ungelöst. Die Angabe Hofmanns, der Körper löse sich nicht mehr in Wasser und werde wohl durch den Alkohol und das Trocknen denaturiert, kann ich demnach nicht ganz bestätigen. Ich hatte Gelegenheit, das Hofmannsche Präparat zu prüfen; es löste sich, wenn auch unvollständig, in Wasser und zeigte intensive Glykogenreaktion. Die filtrierte Lösung reduziert Fehlingsche Lösung nicht, und mit Alkohol lassen sich die schon erwähnten schleimigen Flocken ausfällen. Mit verdünnten Laugen, wie mit verdünnten Säuren geht die Substanz in kolloidale Lösung und läßt sich durch Alkohol wieder ausfällen. Die wässrige Lösung ist auch fällbar durch Bleiessig, nicht aber durch Bleiacetat oder Kupferacetat, wie Zellner für den entsprechenden Körper aus *Amanita muscaria* angibt. Die Phloroglucinreaktion auf Pentosen fällt negativ aus. Die Substanz zeigt intensive Rotfärbung mit Jodjodkaliumlösung, und diese Färbung verschwindet beim Erwärmen, um beim Erkalten wieder aufzutreten. Dieses Verhalten ist dem Glykogen eigentümlich, das ja in den Pilzen nachgewiesen ist und in die Alkoholfällung hineingehen muß. Es stellt demnach das Präparat ein Gemenge von Glykogen mit stickstoffhaltigen Substanzen dar. Daß diese stickstoffhaltigen Substanzen kein Eiweiß sind, geht daraus hervor, daß der Extrakt von *Boletus* an und für sich keine Eiweißreaktionen zeigt und das «Viscosin» selbst keine der gebräuchlichen Eiweißreaktionen direkt liefert. Hingegen kann ich die Angabe Hofmanns, daß der Körper nach längerer Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure, Ausfällen mit Phosphorwolframsäure und Zerlegen der Fällung mit Baryt eine Flüssigkeit liefert, die Biuretreaktion zeigt, bestätigen. Ich kochte 5 g der Substanz mit 75 ccm 5%iger Schwefelsäure. Nach einer halben Stunde entnahm ich eine Probe, verdünnte etwas mit Wasser, filtrierte von noch ungelösten Flocken ab und stellte einige Reaktionen an. Die Fehlingsche Reduktionsprobe fiel positiv aus, ebenso die Jodreaktion auf Glykogen;

also war die Hydrolyse noch nicht vollständig. Biuret- und Millonsche Reaktion fiel negativ aus. Nach 3 Stunden wurde eine neue Probe entnommen. Die Glykogenreaktion war nicht mehr zu erkennen und dementsprechend das Reduktionsvermögen stärker. Die Flüssigkeit erstarrte beim Erkalten zu einer geléeartigen Masse. Nach weiterem 3stündigen Kochen wurde die Flüssigkeit von einer geringen Menge Huminsubstanzen abfiltriert. Der mit Phosphorwolframsäure entstehende Niederschlag wurde in der gewöhnlichen Weise mit Baryt zerlegt. Die mittels Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreite Lösung gibt schwache, violette Biuretreaktion, aber weder Millonsche noch Glyoxalsäurereaktion. Abweichend von den Angaben Hofmanns ist nur das sehr bald eintretende Reduktionsvermögen, wie das ja auch bei der Anwesenheit von Glykogen der Fall sein muß.

Verdauungsversuch. 1 g des Viskosinpräparates wurde mit 85 ccm 0,3%iger Salzsäure und 0,03 g Pepsin in einem Kölbchen zusammengebracht und nach Überschichten mit Toluol während 20 Stunden bei einer Temperatur von 38° C. gehalten. In einer Probe fielen sowohl die Millonsche als die Biuretreaktion negativ aus. Als dies auch noch nach 4 Tagen der Fall war, setzte ich zu einer Probe etwas Eiweiß zu, worauf ich positiven Ausfall erhielt, sodaß ich sicher sein konnte, daß die bräunliche Färbung der Flüssigkeit einen etwaigen positiven Ausfall nicht verdeckt hatte. Als ich nun die Verdauungsflüssigkeit mit Schwefelsäure 5%ig machte und mit Phosphorwolframsäure ausfällte, konnte ich wieder nach Zerlegen des Niederschlages die Biuretreaktion beobachten. Das angewandte, stark wirksame Pepsinferment war vollkommen abiuret. Es wird demnach durch Pepsinverdauung in bezug auf diese Reaktion derselbe Effekt erzielt, wie durch Kochen mit verdünnten Säuren.

Säurehydrolyse. Um einigen Aufschluß über den beträchtlichen N-Gehalt des Präparates zu erlangen, suchte ich festzustellen, welche Spaltprodukte bei der totalen Hydrolyse mit Säure entstehen.

40 g «Viscosin» wurden mit der 9fachen Menge 33%iger Schwefelsäure in einem Rundkolben auf dem Wasserbade er-

hitzt. Als nach einigen Stunden beinahe völlige Lösung eingetreten war, wurde die Flüssigkeit 14 Stunden lang unter Rückflußkühlung zum Sieden erhitzt. Die dunkelbraune Hydrolysenflüssigkeit wurde mit Wasser verdünnt und von ausgeschiedenen Gipskrystallen und Huminsubstanzen abfiltriert. Um das bei der Hydrolyse gebildete Ammoniak zu entfernen, wurde die Flüssigkeit mittels Baryt quantitativ von Schwefelsäure befreit und mit etwas Baryumcarbonat gekocht. Filtrat und Waschwässer wurden eingeengt, mit Schwefelsäure 5%ig gemacht und mit Phosphorwolframsäure versetzt, bis keine weitere Fällung mehr auftrat. Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abgenutscht, mit Baryt zerlegt und in bekannter Weise auf die verschiedenen Basen verarbeitet.

Alloxurbasenfällung. Die Chloride dieser Basen gingen beim Aufnehmen mit Wasser nicht völlig in Lösung. Der ungelöste Anteil, die sogenannte Xanthinfraktion, wurde in sehr verdünnter Natronlauge leicht gelöst, in eine Mischung von konzentrierter Salpetersäure und Wasser (2 : 3) gegossen, und beim Einengen wurden kugelige Aggregate von Krystallblättchen erhalten, die sich beim Stehen rot färbten und die Xanthinprobe, sowie die Chlorkalk-Natronlauge-reaktion zeigten. Die gelösten salzsauren Purinbasen wurden mit Ammoniak alkalisch gemacht. Es entstand eine Fällung, die nach einigem Stehen abfiltriert und mit Wasser gewaschen wurde. Eine Spur davon gab in salzsaurer Lösung mit Metaphosphorsäure eine Fällung, charakteristisch für Guanin. Die Diazobenzolsulfosäurereaktion war positiv. Der Rest wurde in sehr verdünnter Salzsäure heiß gelöst und mit etwas Natriumpikrat versetzt. Beim Abkühlen schieden sich orangefarbene, kugelige, mikroskopische Krystallaggregate aus, welche die Xanthinreaktion gaben, hingegen fiel die Weidelsche Probe negativ aus; es lag vielleicht Guanin-pikrat vor. Beim Verarbeiten der Hypoxanthinfraktion gelang es nicht, weitere krystallisierte Körper zu erhalten.

In die «Histidin-fällung» war eine Substanz eingegangen, welche intensive Diazobenzolsulfosäurereaktion zeigte. Die «Argininfraktion» war sehr gering und wurde nicht weiter verarbeitet. In der «Lysinfraktion» wurde nur Kaliumsalz gefunden. Da

bei der Hydrolyse des Viscosins hauptsächlich Xanthin und vielleicht Guanin entsteht, konnte man an einen pentosidartigen Körper denken. Daher wurde das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag mit Baryt von der Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure befreit und mittels der Phloroglucinreaktion auf Pentosen geprüft, jedoch mit negativem Erfolg.

Daß die Purinbasen nicht mechanisch mitgerissen, bzw. sich nicht frei in dem Viscosin vorfinden, beweist folgender Versuch: 1 g Viscosin wurde mit verdünnter Salpetersäure längere Zeit in der Kälte geschüttelt und filtriert. Auf Zusatz von Silbernitrat entstand eine geringe Fällung, die aber beim Alkalisieren mit Ammoniak sofort verschwand. Vorhandene Purinbasen wären aber durch die Salpetersäure gelöst worden und ihre Silberverbindungen sind in überschüssigem Ammoniak unlöslich.

Kupferhydroxydfällung.

Die Filtrate der Alkoholfällung wurden durch Abdestillieren vom Alkohol befreit und mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd verrührt. Der Niederschlag wurde gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das zum braunen Sirup eingeeengte Filtrat reagierte sauer, und es ist möglich, daß beim Eindunsten hydrolytische Spaltungen eingetreten sind. Die Biuret- und Millonsche Reaktion waren negativ, und durch Sättigung mit Ammonsulfat wurde keine Ausflockung beobachtet. Alkohol erzeugt einen Niederschlag, desgleichen Phosphorwolframsäure. Bei weiterem Einengen erstarrt die Flüssigkeit zu einer Gallerte. Sie enthält eine beträchtliche Menge Stickstoff und zeigt die Diazoreaktion, sowie die Xanthinprobe. Auch mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat entsteht eine Fällung, welche die Reaktionen der Purinkörper zeigt, ebenso mit ammoniakalischer Silberlösung. Durch Eingießen des Sirups in Alkohol wurde ein hygroskopisches braunes Pulver erhalten, welches 10 g wog und 5,5% Stickstoff enthielt.

Bleiessigniederschlag.

Das grünlich gefärbte Filtrat der Kupferfällung wurde mit Bleiessig ausgefällt, der Niederschlag mit Schwefelsäure verrieben und das Filtrat mit Baryt von der überschüssigen Schwefel-

säure befreit. Durch Eingießen der zum Sirup eingedickten Lösung in Alkohol wurde eine flockige Fällung erhalten, die nach dem Waschen mit Alkohol und Äther ein hygroskopisches Pulver bildete, das 14 g wog und 6,6% Stickstoff enthielt. Es zeigt die Diazoreaktion, sowie die gewöhnlichen Reaktionen der Körper der Xanthingruppe.

Untersuchungen an 5000 g frischem *Boletus edulis*.

Die im September 1909 gesammelten Pilze wurden sorgfältig gereinigt. Gleichzeitig wurden die Hyphen abgetrennt und der Rest in einer Fleischmühle zerkleinert. Auf diese Weise wurden 5000 g Pilzbrei erhalten, der sofort mit 10 l 95%igem Alkohol übergossen wurde. Das Material ließ sich auf diese Weise sehr gut konservieren und behielt sein frisches Aussehen. Nach 15 Monaten wurde die Flüssigkeit vom Rückstand getrennt und letzterer mit 85%igem Alkohol ausgekocht. Nach dem Abdestillieren des Alkohols wurde die wässrige Flüssigkeit mit Bleiessig gereinigt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde in der gewöhnlichen Weise verarbeitet. Die Argininfraktion enthielt wieder das Trimethylhistidin, welches durch seine Reaktionen und das Pikrat identifiziert wurde.

Lysinfraktion. Die Basenlösung wurde mit Pikrinsäure neutralisiert. Dabei entstand eine Fällung, welche einmal aus Wasser umkrystallisiert ein hellgelbes krystallinisches Pulver bildete, das sich gegen 245° zersetzte. Es wog 0,85 g. Es wurde in das Chlorid verwandelt, welches derbe Prismen bildet, die nicht zerfließlich, ziemlich leicht löslich in Wasser sind und Pyrrolreaktion zeigen. Das Goldsalz schied sich in makroskopischen, dunkelgelben Nadeln aus, die sich gegen 236° zersetzen.

Exsikkatortrocken: 0,2525 g gaben 0,1240 g Au = 49,11% Au.

Für wasserhaltiges Putrescinchloraurat berechnet sich: 49,04% Au.

Beim Trocknen bei 110° färbte es sich tief orange: 0,1791 g (110° trocken) gaben 0,0921 g Au = 51,42% Au.

Für wasserfreies Putrescinchloraurat berechnet sich: 51,34% Au.

Das in gelben Blättchen krystallisierende Platinsalz enthielt 39,07% Pt. 0,1116 g gaben 0,0436 g Pt. Putrescinplatinchlorid verlangt 39,14% Pt.

Es ist also auch Putrescin in dem frischen Steinpilz vorhanden. Aus dem Filtrat dieses ersten Pikrates schieden sich beim Einengen 0,6 g schöne, orangegelbe zentimeterlange Spieße ab, die sich gegen 235° zersetzen. Sie wurden in das Chlorid übergeführt, welches sich im Exsikkator in eine strahlig krystallinische Masse verwandelt, welche an der Luft rasch zerfließt. Mit Goldchlorid entsteht ein hellgelber, käsiger Niederschlag, welcher aus verdünnter Salzsäure in makroskopischen Nadeln krystallisiert, die bei 264° schmelzen, gleichzeitig mit einem Vergleichspräparat von Cholingoldchlorid unserer Sammlung.

0,2521 g gaben 0,1123 g Au = 44,54% Au.

Berechnet für Cholingoldchlorid 44,50% Au.

Autolysenversuche.

Um einigen Aufschluß über die Wirksamkeit der proteolytischen Fermente der Pilze zu erhalten, wurden Autolysenversuche in der Weise angestellt, daß frischer Steinpilz geputzt, dann in der Fleischmühle zu einem Brei vermahlen und mit Wasser verrührt wurde. Nach Zusatz von etwas Natriumfluorid, Chloroform und Toluol wurde die Masse bei 37° während 6 Wochen der Selbstverdauung überlassen. Nach dieser Zeit wurde eine Nährgelatine unter den vorgeschriebenen Kautelen mit dem Autolysengemisch geimpft, allein es entwickelten sich in keinem Falle Kulturen, sodaß die Autolysen also steril verlaufen waren. Die Autolysenflüssigkeiten wurden durch Kolieren von den Rückständen getrennt, letztere mit Wasser ausgewaschen, nach Auskochen mit Alkohol unter Äther gebracht und an der Luft getrocknet. In den Extrakten wurde der durch Kupferhydroxyd fällbare N, im Filtrat der durch Phosphorwolframsäure fällbare und endlich der Gesamt-N bestimmt. In einem aliquoten Teil der abgemessenen Flüssigkeit wurde die organische Trockensubstanz bestimmt und der Stickstoff in Prozenten davon berechnet. Auch im ungelösten Rückstand wurden Stickstoffbestimmungen ausgeführt. In der nun folgenden Zusammenstellung führe ich die Mittelwerte von je 2 Analysen an.

	I	II	III	IV ¹⁾
Frischer Bolet in g	580	1000	1500	1200
Trockensubstanz in g	61,5	106	159	123,6
Gelöste Substanz in g	55	82,9	136,8	88
Ungelöste Substanz in g	4,2	12,7	15,0	25,5
Wiedergefundene Substanz in g	59,2	95,6	151,8	113,5
Total-N in % der gelösten Trockensubstanz	5,90	6,21	6,64	7,24
Stutzer-N	0,91	0,60	0,67	1,41
Phosphorwolframsäure-N	1,35	2,15	1,62	1,74
Differenz-N	3,64	3,46	4,55	4,09
N im Rückstand in "	3,46	3,37	4,17	4,49

Die Basen aus den Autolyseversuchen.

Im *Secale cornutum* sind, wie schon eingangs erwähnt, mehrere Basen aufgefunden worden, welche, wahrscheinlich ähnlich wie bei der Fäulnis, aus den betreffenden Aminosäuren unter CO_2 -Abspaltung entstehen. Da sich im Mutterkorn beim Trocknen sicher auch autolytische Prozesse abspielen, so schien es von Interesse, die Basen in den Autolyseextrakten näher zu untersuchen. Auch ist es nicht unwahrscheinlich, daß Vergiftungserscheinungen nach dem Genuß von Pilzen sehr oft auf solche sekundär entstandene, physiologisch wirksame Basen zurückzuführen sind.

Die über 30 l betragenden Autolyseextrakte von etwa 6 kg frischem Steinpilz wurden auf 5 l eingeengt, mit Bleiessig gereinigt und nach Zusatz von Schwefelsäure bis zu 5% mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit überschüssigem Barytwasser verrieben, in eine Flasche gefüllt und Luft durchgesaugt. Die mitgehenden flüchtigen Basen wurden in 2 mit wässriger Pikrinsäure beschickten Waschflaschen absorbiert. (Mit Salzsäure gelingt es nicht, diese Basen aufzufangen. Es treten weiße Nebel auf, welche auch durch 3 Waschflaschen mit verdünnter Salzsäure hindurchgehen.) Nach 2 Tagen

¹⁾ Autolyse IV war mit ausgelesenen, ganz jungen Exemplaren angestellt.

gingen nur mehr sehr wenig basische Körper in die Pikrinsäure über, und der geringe Rest flüchtiger Basen wurde durch Rühren an der Turbine vertrieben.

Flüchtige Basen.

Beim Einengen der vorgelegten Pikrinsäure, die größtenteils durch die übergegangenen Basen neutralisiert worden war, schieden sich lange, dicke Spieße von gelber Farbe aus, welche gegen 285° unter Zersetzung schmolzen und das Aussehen und Verhalten von Ammonpikrat zeigten. Mit Lauge erhitzt, entwickelten sie intensiven Ammoniakgeruch. Nach Zersetzen mit Salzsäure und Äther erhält man mit Nesslerschem Reagens eine braunrote Fällung. Diese Krystallisation bestand demnach aus Ammonpikrat. Aus den Mutterlaugen schied sich ein weiteres undeutlich krystallisiertes Pikrat ab. Es wurde mit Äther geschüttelt, um die überschüssige Pikrinsäure zu entfernen, welche vielleicht die Krystallisation hindern konnte. Aber auch jetzt krystallisierte das Pikrat nicht viel besser. Daher wurde es mit Salzsäure zersetzt und die Pikrinsäure ausgeäthert. Die wässrige Lösung wurde eingedunstet und das Chlorid mehrmals mit absolutem Alkohol aufgenommen, um noch vorhandenes Ammonchlorid zu entfernen, bis eine Probe mit Nesslerschem Reagens keine braunrote, sondern nur mehr eine weißliche Fällung gab.

Es entwickelte beim Erhitzen mit Lauge einen intensiven Geruch nach Isoamylamin. Die konzentrierte, wässrige Lösung schied mit Goldchlorid ein schillerndes, in breiten, dünnen Blättchen krystallisierendes Goldsalz aus. Es wurde abgesaugt, mit konzentrierter Salzsäure, in der es wenig löslich ist, gewaschen und im Vakuumexsikkator über Natronkalk und Schwefelsäure getrocknet.

0,1054 g gaben 0,0488 g Au = 46,25% Au

0,4547 » » 0,2098 » Au = 46,14% Au.

Berechnet für Isoamylaminchloraurat: $C_5H_{13}N \cdot HAuCl_4$:
46,17% Au.

Aus Isoamylamin unserer Sammlung wurde zum Vergleich das Goldsalz dargestellt. Es besaß genau das gleiche Aussehen

und schmolz bei 145° , während das Goldsalz aus der Autolyse bei 137° schmilzt. In der Literatur finden sich keine Angaben über dieses sehr schön krystallisierende Goldsalz des Isoamylamins. Es besitzt ein ganz charakteristisches Aussehen und seine Löslichkeit scheint mir eher noch geringer zu sein als die des Chloroplatinats. Wenn man mit starker Salzsäure auswäscht, hat man keine sehr großen Verluste zu befürchten. Das bei der letzten, indirekten Au-Bestimmung wiedergewonnene Chlorid war zerfließlich und wurde in das Platinsalz übergeführt.

0,1502 g gaben 0,0502 g Pt = 33,41% Pt.

Berechnet für $(C_5H_{13}N)_2 \cdot H_2PtCl_6$: 33,37% Pt.

Nichtflüchtige Basen.

Die Verarbeitung des Phosphorwolframsäureniederschlags geschah in der gewöhnlichen Weise, und ich werde im folgenden nur die an den einzelnen Fraktionen ausgeführten Untersuchungen beschreiben.

Alloxurbasenfällung. Der grünlich gefärbte Niederschlag wurde mit Ammoniak digeriert, um zu den Silberverbindungen zu gelangen, welche alsdann ausgewaschen und mit Salzsäure zersetzt wurden. Die Chloride wurden durch mehrfaches Abdampfen von der Salzsäure befreit und mit lauwarmem Wasser aufgenommen. Ungelöst blieb ein dunkler Rückstand, die Xanthinfraktion.

Sie wurde in 3,3%iger Natronlauge gelöst und in ein Gemenge von Wasser und konzentrierter Salpetersäure gegossen (2 : 3). Beim Stehen schieden sich braunrot gefärbte Krystalldrusen aus, die eine sehr schöne Xanthinreaktion zeigten. (Mit Salpetersäure eingedunstet, färbte sich der Rückstand auf Zusatz von Natronlauge schön rot.) Auch die Reaktion auf Xanthin mit Chlorkalk und Natronlauge war positiv. Beim Einwerfen eines Kryställchens in ein Gemisch von Chlorkalk und Natronlauge färbte sich die Flüssigkeit um die Substanz grün, später braun. Der Körper, welcher die für Xanthinnitrat charakteristische Drusenform zeigte, wurde in verdünnter Salpetersäure gelöst und Silbernitrat hinzugefügt. Beim Erkalten schieden sich

radial-strahlig angeordnete feine Nadelchen aus, vollkommen ähnlich der aus Xanthin unserer Sammlung erhaltenen Silbernitratdoppelverbindung.

Guaninfraktion. Die wasserlöslichen Chloride wurden mit Ammoniak versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und zur Reinigung mit 1%iger Essigsäure ausgekocht, worin das Guanin kaum löslich ist. Der Rückstand wurde in warmer verdünnter Schwefelsäure gelöst und eine Probe mit Metaphosphorsäure versetzt. Es entstand eine starke Fällung, die auch nach Zusatz von überschüssiger Schwefelsäure nicht in Lösung ging. Eine solche unlösliche Metaphosphorsäureverbindung ist charakteristisch für Guanin. Auch die Diazobenzolsulfosäurereaktion und Xanthinprobe fielen positiv aus. Zur Reinigung wurde die schwefelsaure Lösung mit Ammoniak versetzt und die bei noch stark saurer Reaktion entstandene Fällung abfiltriert. Auf weiteren Zusatz von Ammoniak entstand ein heller gefärbter Niederschlag, der wieder in heißer verdünnter Schwefelsäure gelöst wurde. Beim Einengen und Abkühlen krystallisierten die makroskopischen Nadeln des Guanins. Sie waren noch bräunlich gefärbt und wurden in das Pikrat übergeführt, das in feinen orangefarbenen Nadelbüscheln anschoß; es färbte sich beim Erhitzen gegen 130° auffallend heller und zersetzte sich allmählich, ohne zu schmelzen. Eine Analyse wurde wegen Mangels an Substanz nicht ausgeführt. Doch dürfte das angeführte Verhalten und die dargestellten charakteristischen Verbindungen genügen, um das Vorhandensein von Guanin darzutun.

Eine beträchtliche Menge der Guaninfraktion hatte sich in der 1%igen Essigsäure gelöst. Nach dem Eindunsten wurde der Rückstand in sehr verdünnter Salzsäure gelöst. Beim Abkühlen krystallisierten makroskopische, feine Nadeln, die unter dem Mikroskop als schlanke Prismen erschienen. Die Xanthin- und Weidelsche Probe war negativ, ebenso die Diazobenzolsulfosäurereaktion, und mit Metaphosphorsäure entstand in saurer Lösung keine Fällung. Also weder Guanin noch Xanthin vorhanden. Das Chlorid war selbst in heißem Wasser nicht löslich und bestand somit nicht aus Adeninchlorhydrat. Das Pikrat bildete hellgelbe Krusten, welche durchaus nicht mit

dem Pikrat von Guanin oder Adenin zu verwechseln waren. Es sinterte gegen 200° und zersetzte sich bei 235° . Das Chlorid wurde nun mit heißer verdünnter Salpetersäure und Silbernitratlösung versetzt. Aus dem Filtrat vom Silberchlorid schieden sich beim Erkalten die mikroskopischen, feinen gebogenen Nadelchen aus, wie sie für Hypoxanthinsilbernitrat beschrieben sind. Des weiteren wurde das Silbernitratdoppelsalz in heißem Wasser aufgeschlämmt, mit Salzsäure zersetzt, das Filtrat mit Ammoniak versetzt und eingedunstet, wobei sich eine kreidige Masse ausschied, welche in verdünnter Salpetersäure gelöst wurde. Beim Erkalten schieden sich die charakteristischen wetzsteinförmigen Krystalle des Hypoxanthinnitrats aus.

Adeninfraction. Aus dem Filtrat von der Guaninfällung wurde das überschüssige Ammoniak durch Erwärmen auf dem Wasserbade vertrieben und die Lösung mit wässriger Pikrinsäure versetzt. Aus der amorphen Fällung konnte durch Umkrystallisieren und Kochen mit Tierkohle kein Adeninpikrat erhalten werden, sondern nur geringe Mengen einer amorphen klebrigen Masse. Es scheint demnach kein Adenin vorhanden zu sein, denn sein schwer lösliches, gut krystallisierendes Pikrat hätte der Untersuchung kaum entgehen können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß das Adenin (6. Aminopurin) bei der Autolyse in Hypoxanthin (6. Oxypurin) umgewandelt wird.

Hypoxanthinfraction. Das Filtrat von der Pikrinsäurefällung wurde mit Schwefelsäure und Äther zerlegt, und die schwefelsaure Lösung mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit versetzt, 3 Minuten gekocht, heiß filtriert und die Fällung gut ausgewaschen. Sie wurde in heißem Wasser aufgeschlämmt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat wurde zur Trockne gebracht und mit verdünnter Salpetersäure (1:10) aufgenommen. Beim Abkühlen krystallisierte ein Nitrat in den wetzsteinförmigen Krystallen des Hypoxanthinnitrats.

Histidinfraction. Es gelang nur, eine geringe Menge eines Pikrates zu erhalten, das dem aus der folgenden Argininfraction erhaltenen vollständig glich und sich ebenfalls bei 200 — 201° zersetzte.

Argininfraction. Das Nitrat bildete einen dunklen Sirup

mit spärlichen Krystallen. Es wurde daher in das Pikrat übergeführt, welches nach Entfernen harziger Beimengungen mittels Tierkohle bei 201° schmolz. Die Analyse ergab Werte, welche auf das Monopikrat des Trimethylhistidins stimmen.

0,2190 g gaben 0,3377 g CO_2 = 42,05% C
 und 0,0819 g H_2O = 4,18% H
 0,1377 g gaben 24,8 ccm N bei 15° und 724 mm 19,98% N.

Die Autolyse hat demnach keine Einwirkung auf diese Base gehabt.

Lysinfraktion. Zuerst schieden sich etwa 2 g Kaliumchlorid aus, das mit Alkohol gewaschen wurde. Das Filtrat lieferte beim Einengen eine neue Abscheidung, die aus Kaliumchloridwürfeln und aus Nadeln, welche sich als organisch erwiesen, bestand. Letztere gingen beim Behandeln mit 95%igem Alkohol in Lösung. Der Alkohol wurde abgedampft und die salzsaure Lösung des Rückstandes mit Goldchlorid versetzt. Nach einigen Sekunden trat eine krystallinische Fällung auf, welche aus gebogenen Nadelchen bestand, wie sie das Tetramethyldiaminchloraurat besitzt. Nach Umkrystallisieren wurden sie erst im Vakuum, dann bei 105° getrocknet.

0,3066 g gaben 0,1572 g Au = 51,27% Au.

Berechnet für Putrescinchloraurat = 51,34% Au.

Die salzsaure Mutterlauge des Tetramethyldiamins wurde scharf getrocknet und mit absolutem Alkohol übergossen. Nach 24stündigem Stehen im Exsikkator war noch ein beträchtlicher Rückstand ungelöst geblieben, welcher aus Wasser in langen Spießen krystallisierte und durch Darstellung des Goldsalzes und Pikrates als Putrescinchlorhydrat identifiziert wurde. Der in absolutem Alkohol lösliche Teil wurde mit einer heiß gesättigten Merkurichloridlösung versetzt. Die ölige Fällung erstarrte beim Stehen und Reiben. Sie wurde nach mehreren Tagen abfiltriert und aus Wasser unter Zusatz von etwas Merkurichlorid umkrystallisiert. Die Quecksilberdoppelsalze wurden mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat eingengt, wobei es zu einer strahlig krystallinischen Masse erstarrte. Nach gutem Trocknen wurden die Chloride mit absolutem Alkohol behandelt, wobei ein beträchtlicher Teil ungelöst blieb.

Dieser bestand ausschließlich aus Putrescinchlorid, wie aus der Analyse der einzelnen Fraktionen des Platindoppelsalzes hervorgeht, welches durchsichtige orangefarbene Spieße bildete, die sich aus der noch heißen Lösung abschieden.

0,1382 g gaben 0,0538 g Pt = 38,93% Pt

0,2040 » » 0,0798 » Pt = 39,12% Pt.

Berechnet für Putrescinchloroplatinat = 39,14% Pt.

Der in absolutem Alkohol lösliche Teil wurde eingedunstet und die wässrige Lösung mit Platinchlorid gefällt. Es entstand eine hellgelbe amorphe Fällung, die auch in heißem Wasser so gut wie unlöslich war. Sie zersetzte sich bei 238° und enthielt 37,39% Pt.

0,2843 g gaben 0,1063 g Pt.

Die alkoholische Mutterlauge von der Quecksilberchlorid-fällung wurde eingedunstet, aus Wasser umkrystallisiert und die Abscheidung mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus der konzentrierten Lösung der Chloride wurde beim Versetzen mit Platinchlorid eine gelbliche, krystallinische Fällung erhalten, welche aus heißem Wasser umkrystallisiert wurde.

0,1570 g gaben 0,0475 g Pt = 30,25% Pt.

Für Phenyläthylaminplatinchlorid berechnet = 29,9% Pt.

Das aus dem Chlorid dargestellte Pikrat bildete kurze, stumpfe Nadeln und schmolz bei 165°.

Daneben ist noch ein leichter lösliches Platinat vorhanden, welches 40,16% Pt enthält. Für die Einheitlichkeit des Präparates ist keine absolute Garantie vorhanden, doch schließt es sicher keinen Platinsalmiak ein, wie der negative Ausfall der Nesslerischen Probe beweist. Die Mutterlauge der letzten Quecksilberdoppelsalze, welche also die sowohl in Wasser als in Alkohol leicht lösliche Fraktion enthält, wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die Millonsche Reaktion fiel positiv aus, was auf das Vorhandensein von Paraoxyphenyläthylamin hindeutet. Auch die Diazobenzolsulfosäurereaktion war positiv, und es tritt dabei ein eigentümlicher aromatischer Geruch auf, den weder die sodaalkalische Diazobenzolsulfosäure, noch die alkalische Basenlösung für sich allein zeigen: erst beim Vermischen kommt der Geruch zustande. Die konzentrierte wässrige

Lösung gab mit Platinchlorid eine hellgelbe Fällung, die nach vorhergehender Schwärzung gegen 218° schmolz.

0,1240 g gaben 0,0397 g Pt = 32,02% Pt
und 0,1740 g AgCl = 34,70% Cl.

Für $C_9H_{15}N_3O_2 \cdot H_2PtCl_6$ berechnet: 32,11% Pt
34,99% Cl.

Es scheint also auch diesmal eine geringe Menge des Trimethylhistidins der Silberfällung entgangen zu sein.

Verdauungsversuche in vitro.

Da die Verdaulichkeit der Proteinkörper der Pilze für die Beurteilung ihres Nährwertes von Wichtigkeit ist, führte ich einige Verdauungsversuche mit dem vorher vollständig mit Äther, Alkohol, und Wasser extrahierten Pilzrückstand aus. Dieses Material enthielt lufttrocken 7,83% N, bei 105° getrocknet 8,91% N.

Pepsinverdauung. Die Verdauungsflüssigkeit bestand aus 500 ccm Wasser, das 4,5 ccm konzentrierte Salzsäure, 0,5 g Fluornatrium und 1,5 g wirksames Pepsinferment enthielt. 50 g des Pilzmaterials wurden damit verrührt, mit Toluol überschichtet und während 12 Tagen bei 38° gehalten. Der ungelöste Rückstand wurde durch Kolieren von der braunen Flüssigkeit getrennt. Die Lösung zeigte eine ins rötliche spielende Biuretreaktion, während das angewandte Pepsinferment völlig abiuret war. Auch die Millonsche Reaktion war positiv. Der ausgewaschene Rückstand kam unter Alkohol, dann unter Äther. Sein Gewicht betrug 24,7 g. Er enthielt 3,97% N.

Beim Erwärmen mit Millonschem Reagens färbte der Rückstand sich rötlich, ein Zeichen, daß durch die Pepsinverdauung nicht alles Eiweiß herausgelöst wird.

Trypsinverdauung. Dieser Versuch wurde unter denselben Bedingungen durchgeführt wie der vorige, nur bestand die Verdauungsflüssigkeit aus 500 ccm Wasser, 1,5 g Soda, 0,5 g Fluornatrium und 1,5 g Trypsinferment (Merck). Die Verdauungslösung gab eine starke Millonsche Reaktion, die Biuretreaktion war negativ. Beim Einengen schied sich eine Krystallkruste aus, welche unter dem Mikroskop die Nadel-

büschel des Tyrosins erkennen ließ, neben kugeligen Aggregaten, wie man sie beim Leucin beobachtet. Das Tyrosin wurde durch seine bekannten Reaktionen mit Sicherheit identifiziert.

Das Gewicht des ungelösten Rückstandes betrug 17 g. Er enthielt 1,92% N. Beim Erwärmen mit Millonschem Reagens trat keine Rotfärbung ein, eine Bestätigung dafür, daß durch das Trypsinferment alles Eiweiß herausgelöst worden war.

Bei einer kombinierten Pepsin-Trypsinverdauung wurde das gleiche Resultat erhalten, wie bei der einfachen Trypsinverdauung. Der Rückstand wog ebenfalls 17 g und zeigte keine Millonsche Reaktion.

Sein N-Gehalt betrug 2,01%.

Quantitative Trypsinverdauung.

Da das angewandte Material bereits mit Äther, Alkohol und Wasser erschöpft war, so ist die bei der Trypsinverdauung gelöste Substanz als verdaute Eiweißsubstanz anzusehen. Um den N-Gehalt dieses Eiweißkörpers wenigstens annähernd zu bestimmen, sollte der N-Gehalt in einer quantitativ verarbeiteten Verdauungslösung bestimmt werden. Zu diesem Zwecke wurden 5 g lufttrockenes Material mit 75 ccm Wasser, 0,21 g Soda, 0,075 g Fluornatrium, 0,21 g Trypsin (Merck) während drei Tagen im Thermostaten bei 37° verdaut. Das überstehende Toluol wurde abpipettiert und das Verdauungsgemisch durch ein bei 100° getrocknetes und gewogenes Filter dekantiert. Das auf 250 ccm gebrachte Filtrat zeigte keine Biuretreaktion, hingegen fiel die Millonsche Reaktion positiv aus.

25 ccm enthielten 0,2912 g organische Trockensubstanz.

25 ccm verbrauchten 13,66 ccm $\frac{1}{5}$ -n-Salzsäure.

Daraus berechnet sich der N-Gehalt der gelösten Substanz zu 14,05%.

Gelöste Trockensubstanz	2,912 g
Ungelöste	1,621 g
Summe	4,533 g.

Trockenes Ausgangsmaterial: 4,347 g.

Löslicher N 0,3795 g

Unlöslicher N 0,0336 g

Summe 0,4131 g.

N im Ausgangsmaterial: 0,3915 g.

Die kleine Differenz von 0,026 g N ist wohl auf den N-Gehalt des benutzten Trypsinfermentes zurückzuführen.

Aus den angeführten Zahlen geht hervor, daß der Versuch recht quantitativ durchgeführt wurde, sodaß der gefundene Wert von 14,05 % N im verdaulichen Protein wohl zutreffen mag. In der Tat betrug der N-Gehalt eines Präparates, das ich nach der Kupfer-Kalimethode dargestellt habe, 14,00 % N.

Da die Menge der durch Trypsinverdauung gelösten Substanz in allen Versuchen 65 % betrug, und andererseits dem mit Äther, Alkohol, und Wasser extrahierten Ausgangsmaterial ungefähr das doppelte Gewicht an trockenem Boletus entspricht, so stellt sich der Eiweißgehalt auf 32,5 %, oder ein Drittel der Trockensubstanz vom Steinpilz besteht aus durch Trypsinferment verdaulichem Eiweiß.

Der Trypsinverdauungsrückstand, welcher keine Millon'sche Reaktion mehr liefert, enthält in der Tat keinen Eiweißkörper mehr. Dies geht hervor aus der Bestimmung des Stickstoffs im Phosphorwolframsäureniederschlag, nach Behandlung des Rückstandes in der von Kossel und Kutscher¹⁾ für die quantitative Proteinhydrolyse angegebenen Weise. Dieser Niederschlag war sehr gering und enthielt kaum 4 % des Gesamtstickstoffs, und diese geringe Menge ist wohl auf Rechnung der bei der Chitinspaltung entstehenden unbekanntem Nebenprodukte zu setzen.

Wenn man nun den ganzen im Rückstand enthaltenen Stickstoff als im Chitinmolekül enthalten annimmt und für dieses einen Stickstoffgehalt von 6 % einsetzt, so berechnet sich der Chitingehalt des getrockneten Steinpilzes zu rund 5,5 %, eine Zahl, die mit der von Scholl erhaltenen Ausbeute an Chitin aus *Boletus edulis* (5—6 %) in voller Übereinstimmung steht.

Bei meinen Versuchen, nach den Angaben Scholls Chitin

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 31, S. 165.

zu gewinnen; erhielt ich Präparate mit 5,6 und 5,9% Stickstoff. Dementsprechend war auch die Ausbeute etwas höher, als Scholl angibt. Das neben dem Chitin vorhandene hemicellulosenähnliche Kohlenhydrat haftet ersterem ziemlich hartnäckig an und drückt den Stickstoffgehalt der Präparate herunter.

Der Nachweis des Chitins wurde geführt durch Hydrolyse mit Salzsäure und Darstellung des charakteristischen salzsauren Glukosamins.

Hydrolyse von 500 g Pilzrückstand, behufs Gewinnung der Aminosäuren aus dem Pilzeiweiß.

500 g lufttrockenes Material (mit Äther, Alkohol, und Wasser extrahiert) mit 7,32% N wurden mit 1500 ccm konzentrierter Salzsäure übergossen. Die Masse quoll anfangs auf und wurde im Wasserbade erwärmt, bis fast alles gelöst war. Die gelbe Flüssigkeit wurde dann vorsichtig am Rückflußkühler erwärmt, weil bei stärkerem Erhitzen heftiges Schäumen auftrat. Über Nacht war die Masse zu einer Gallerte erstarrt, die in 2 Kolben verteilt mit je 750 ccm Salzsäure weitere 8 Stunden zum Sieden erhitzt wurde. Die Hydrolysenflüssigkeit wurde mit Wasser verdünnt und die reichlich ausgeschiedene Huminsubstanz abfiltriert. Das dunkelbraune Filtrat wurde im Vakuum bei 40° eingeeengt und blieb 2 Tage über Schwefelsäure stehen. Dabei schieden sich reichliche Mengen glänzender Krystallblättchen aus, die nach Umkrystallisieren aus Wasser die charakteristischen Dodekaederformen des salzsauren Glukosamins besaßen. Geschmack, Reaktionen und Krystallform lassen keinen Zweifel an der Natur dieses Körpers zu, der jedenfalls aus dem Pilzchitin entstanden war. Insgesamt wurden 20 g erhalten.

Die dickflüssige Mutterlauge wurde weiter eingeeengt, bis sich zähe Blasen bildeten, mit 2 Volumina absolutem Alkohol übergossen und mit trockenem Salzsäuregas gesättigt. Die Lösung wurde bei vermindertem Druck eingeeengt und die Veresterung wiederholt. Die Isolierung der Aminosäureester geschah nach E. Fischer¹⁾ mit Hilfe von Natriumhydroxyd und

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 33, S. 151.

Kaliumcarbonat durch Ausätherung. Die Fraktionierung der Ester geschah in 2 Portionen aus dem Ölbade unter vermindertem Druck. Es wurde sowohl die Temperatur des Bades als auch die der übergehenden Ester abgelesen. Die mittlere Temperaturangabe bezieht sich auf den Übergang der Hauptmenge der Fraktion.

Ölbadtemperatur	Thermometer im Dampf	Druck mm	Gewicht g
I. bis 60°	16—22—30°	15	20
„ 120°	60—90°	13	25
„ 150°	90—93°	12	7
„ 160°	115—117°	12	4
„ 190°	130—136°	12	6
freie Flamme	180—182—194°	12	8,4
„ „	195—210—215°	12	10
II. bis 80°	36—42—45°	25	15
„ 120°	60—64—80°	10	12
„ 130°	80—82—90°	10	6,7
„ 133°	93—96—105°	10	1,5
„ 150°	113—126°	10	3
„ 183°	130—138—145°	10	7,5
freie Flamme	145—176—186°	10	1,2
„ „	190—195—210°	10	3
Summe			130,3

Da die ersten Fraktionen noch etwas Alkohol enthielten, stellt sich das Gewicht der Ester etwas niedriger.

Verseifung.

Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und sofort weiter verarbeitet. Die bis 100° siedenden Anteile waren in Wasser klar löslich und wurden durch Kochen mit der 10fachen Menge Wasser am Rückflußkühler verseift, bis die Reaktion nach etwa 6 Stunden nicht mehr alkalisch war. Die höher siedenden Ester waren nicht vollständig wasserlöslich und gaben beim Übergießen mit Wasser 2 Schichten oder eine Trübung.

Nach der Vorschrift von E. Fischer und Abderhalden¹⁾ wurde mit Äther im Scheidetrichter geschüttelt und die ätherische Lösung zweimal mit Wasser gewaschen, um andere mitgelöste Ester zu entfernen. Die wässerigen Anteile wurden mit etwa der doppelten Menge des Gewichtes der Ester an Baryt durch zweistündiges Kochen am Rückflußkühler verseift.

Untersuchung der einzelnen Fraktionen.

Glykokoll fand sich in der ersten Fraktion. Nach dem Verdunsten des Wassers blieb ein weißer Rückstand, der in absolutem Alkohol suspendiert und durch trockenes Salzsäuregas verestert wurde. Das gut krystallisierte Esterchlorhydrat wurde durch Zusatz von etwas Äther abgeschieden und schmolz bei 140° gleichzeitig mit einer Vergleichsprobe von Glykokoll-esterchlorhydrat unserer Sammlung. Da kein anderes Aminosäureesterchlorhydrat krystallisiert, so genügt eigentlich die Darstellung dieser Verbindung zum Nachweis des Glykokolls, das zudem noch in der ersten Fraktion aus der zweiten Portion gefunden wurde.

Der Verseifungsrückstand bestand aus reinem Glykokoll, war optisch vollkommen inaktiv und zersetzte sich rasch erhitzt bei 239°. Er lieferte ein Pikrat, das wie das Glykokollpikrat bei 190° schmilzt.

Die Mutterlauge vom Glykokollesterchlorhydrat wurde durch mehrmaliges Abdampfen mit Wasser von Alkohol und Salzsäure möglichst befreit, mit Bleioxyd gekocht, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff von gelöstem Blei befreit, und die Aminosäuren mit nach Heintz dargestelltem Kupferhydroxyd gekocht. Die erste Krystallisation bestand aus blauen, krustigen Krystallmassen, die aus Valinkupfer bestanden:

0,1004 g gaben 0,0267 g CuO 21,25% Cu.

Für Valinkupfer berechnet: 21,43% Cu.

Bei weiterem Eindunsten wurde noch eine ähnliche Krystallfraktion erhalten, und die Mutterlauge schied wieder reichliche Mengen einer Kupferverbindung aus, die zur Befreiung

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 36, S. 268.

von Valinkupfer mit Methylalkohol ausgekocht wurde. Der Rückstand bestand nach der Analyse aus Alaninkupfer.

0,1132 g lieferten 0,0377 g CuO = 26,61% Cu.

Berechnet für Alaninkupfer: 26,52% Cu.

Die gemeinsam verseiften wässerigen Aminosäurenlösungen der zweiten Fraktionen schieden bereits beim Erkalten reichliche Krystallmassen aus, die abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen wurden. Mutterlaugen und Waschwässer wurden einer weiteren fraktionierten Krystallisation unterworfen. Die ersten Fraktionen bestanden aus reinem Leucin.

1. Fraktion: 0,1803 g gaben 0,0443 g CuO = 19,64% Cu.

Berechnet für Leucinkupfer: 19,64% Cu.

0,7084 g wurden zur Polarisation in 15 ccm 20%iger Salzsäure gelöst. Die abgelesene Drehung im Soleil-Ventzkeschen Apparat betrug bei Anwendung eines Zweidezimeterrohres $4,3^\circ$ bei 20° . Daraus $[\alpha]_D = +15,7^\circ$. E. Fischer fand im Mittel $+15,6^\circ$, E. Schulze $+16,9^\circ$, Abderhalden gibt im Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden $+15,9^\circ$ an.

2. Fraktion: 0,1402 g gaben 0,0350 g CuO = 19,96% Cu.

3. » 0,1484 » » 0,0362 » CuO = 19,49% Cu.

Aus den Mutterlaugen des letzteren Kupfersalzes wurden bei weiterem Einengen dickere, blaugefärbte Krystalle erhalten, die wohl Valinkupfer repräsentieren:

0,1070 g gaben 0,0290 g CuO = 21,66% Cu.

Berechnet für Valinkupfer: 21,48% Cu.

Die beim Umkrystallisieren der freien Aminosäuren erhaltene Mutterlauge wurde zur Entfernung der Pyrrolidincarbonsäure zur Trockne gebracht und mehrmals mit absolutem Alkohol ausgekocht. Als dann das Kupfersalz dargestellt wurde, schied sich als erste Fraktion wieder Valinkupfer ab.

0,1342 g gaben 0,0362 g CuO = 21,55% Cu.

Die Mutterlauge wurde zur Trockne gebracht und zur Entfernung des Valinkupfers mit Methylalkohol ausgekocht. Der Rückstand besaß den Kupfergehalt des Alaninkupfers:

0,1044 g gaben 0,0348 g CuO = 26,63% Cu.

Berechnet für Alaninkupfer: 26,52% Cu.

Prolin.

Wie schon erwähnt, wurden die letzten Krystallisationen der freien Aminosäuren mit absolutem Alkohol je dreimal ausgekocht. Bei den ersten mit Wasser ausgewaschenen Fraktionen konnte diese Behandlung unterbleiben, da das leichtlösliche Prolin sich jedenfalls in den letzten Fraktionen vorfindet. Die vereinigten alkoholischen Filtrate wurden im Vakuum eingeeengt und erstarrten im Exsikkator zu einer glasartigen Masse. Sie wurde zur Reinigung so oft mit absolutem Alkohol aufgenommen, bis sie sich leicht und vollständig löste. Ihr Gewicht betrug 6,2 g. Auch das Kupfersalz konnte nicht zum Krystallisieren gebracht werden. Es war fast völlig löslich in absolutem Alkohol bis auf eine geringe Menge eines äußerst hygroskopischen blauen Krystallpulvers, das 29,75% Cu enthielt. Da auch aus der alkoholischen Lösung des Kupfersalzes nichts krystallisierte, wurde es wieder in die freie Aminosäure, und diese nach den Angaben von E. Fischer¹⁾ in das Phenylhydantoin verwandelt. Aus kochendem Wasser umkrystallisiert, schied es sich in schönen Nadeln ab, die bei 138° sintern und bei 141° schmelzen. E. Fischer fand für das Phenylhydantoin des Prolins den Schmelzpunkt bei 144° (korr.).

Eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab in der bei 105° getrockneten Substanz folgendes Resultat:

0,1738 g gaben 21,6 ccm Stickstoff bei 728 mm und 20° = 13,12% N.

Berechnet für Prolinhydantoin $C_{12}H_{12}O_2N_2$: 12,97%.

Phenylalanin.

Zur Gewinnung des Phenylalanins waren die höher siedenden Esterfraktionen mit Äther ausgeschüttelt worden. Die ätherische Lösung wurde wie gebräuchlich verarbeitet und die Ester mit Salzsäure verseift. Aus der Lösung der Chlorhydrate in wenig Wasser wurde durch Zusatz von Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion eine weiße Fällung erhalten, die keine Reaktionen des Phenylalanins gab und aus Leucin bestand, indem das blaßblaue und schwerlösliche Kupfersalz 19,64% Cu

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 33, S. 151.

enthielt. Das Filtrat von dieser ersten Fällung wurde stark eingeeengt, und nach Zusatz von Alkohol entstand wieder eine weiße Fällung, deren Gewicht 0,7 g betrug. Die in verdünnter Salzsäure gelöste Substanz gab mit Phosphorwolframsäure die für Phenylalanin angegebene ölige Fällung,¹⁾ die beim Stehen krystallinisch erstarrte. Auch die von E. Fischer angegebene Reaktion, Bildung von Phenylacetaldehyd beim Erhitzen mit 25%iger Schwefelsäure und Bichromat fiel positiv aus. Da das Phenylalanin bei der Verseifung mit Salzsäure stets partiell racemisiert wird, konnte die Reinheit des Präparates auf Grund der optischen Prüfung nicht festgestellt werden. Das Kupfersalz ergab einen auf Phenylalanin stimmenden Wert:

0,1500 g gaben 0,0310 g CuO = 16,52% Cu.

Berechnet: 16,23% Cu.

Asparaginsäure.

Die wasserlöslichen Anteile der höher siedenden Fraktionen waren in der schon beschriebenen Weise mit Baryt verseift worden. Aus Fraktion VI schieden sich nach einigem Stehen schöne Drusen aus, wie sie für asparaginsaures Baryum beschrieben sind. Sie wurden mit 25%iger Schwefelsäure heiß zersetzt, die überschüssige Schwefelsäure durch Baryt quantitativ entfernt und das Filtrat eingedunstet. Die freie Asparaginsäure schied sich in schönen Krystallen ab. Auch aus der Fraktion V₂ und VI₁, die vereinigt worden waren, wurde Asparaginsäure in beträchtlicher Menge erhalten, zusammen über 2 g. Das Kupfersalz bildete mikroskopische, zu Garben vereinigte blaue Nadelchen,²⁾ welche erst im Vakuumexsikkator, dann einen Tag lang bei 110—115° getrocknet wurden.

0,2127 g gaben 0,0833 g CuO = 31,29% Cu.

Berechnet für C₄H₅NO₄Cu + 1/2 H₂O: 31,24% Cu.

Aus dem Filtrat des asparaginsauren Baryts wurde nach Entfernung des Baryums mit Schwefelsäure 0,5 g Glutaminsäure krystallisiert erhalten. Sie schmolz bei 206—207°. Auch

¹⁾ Schulze und Winterstein, Diese Zeitschrift, Bd. 33, S. 574.

²⁾ Abderhalden und Kautzsch, Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 459.

das salzsaure Salz stimmte mit dem Glutaminsäurechlorhydrat überein.

0,1563 g gaben 0,1223 g AgCl = 19,35% Cl

Berechnet für $C_5H_{10}NO_4Cl$: 19,31% Cl.

Ein Körper, der nach seinem ganzen Verhalten Leucinimid ist, wurde aus den letzten halbfesten Destillaten durch Umkrystallisieren aus Alkohol gewonnen. Die Substanz krystallisiert in mikroskopisch feinen Nadeln, die sich bei 267° zersetzen. Da Leucinimid bei der Esterdestillation ein sekundäres Produkt ist, wurde die Substanz nicht weiter analysiert.

Im Folgenden führe ich die Ausbeuten an, in welchen die einzelnen Monoaminosäuren erhalten wurden.

Wenn auch die Zahlen keinen Anspruch auf quantitative Genauigkeit erheben, so geben sie immerhin ein ungefähres Bild der Mengenverhältnisse, in welchen die Aminosäuren im Boletus-eiweiß sich vorfinden. Aus 500 g des angewandten Materiales entsprechend ca. 300 g Eiweiß erhielt ich:

Glykokoll	3,0 g
Alanin	8,0 »
Leucin	20,0 »
Valin	4,0 »
Asparaginsäure	2,1 »
Glutaminsäure	0,5 »
Prolin	6,0 »
Phenylalanin	1,0 »

Zur Darstellung von Pilzeiweiß.

Die Natur des Eiweißes der höheren Pilze ist noch nicht völlig aufgeklärt. Aus den wenigen Arbeiten geht jedoch hervor, daß seine Darstellung nicht gut nach den gewöhnlichen Methoden der Pflanzeneiweißgewinnung gelingt. Wie ich mich durch einen Versuch überzeugete, gelingt es nicht, durch Digerieren in der Kälte mit 10%iger Kochsalzlösung aus getrocknetem, fein gepulvertem Steinpilz einen Proteinkörper in Lösung zu bringen. Nach E. Winterstein gelingt es nicht, aus einer alkalischen Lösung des Pilzeiweißes dieses wieder vollständig durch Essigsäure zu fällen. Ich arbeitete in einem Falle

nach dem Schmiedeberg-Krawkowschen Kupfer-Kaliverfahren, indem ich 10 g des mit Äther, Alkohol und Wasser extrahierten Pilzmaterials mit Kupferacetatlösung und dann mit 5%iger Kalilauge versetzte, bis zum Auftreten einer starken Biuretreaktion. Nach 12stündigem Stehen wurde die Lösung filtriert, mit Essigsäure schwach angesäuert und die Fällung auf dem Filter mit Wasser, Alkohol, und Äther ausgewaschen. Der ungelöste Rückstand wurde mit Lauge der gleichen Konzentration ausgewaschen, bis keine Biuretreaktion mehr auftrat, was einige Wochen in Anspruch nahm, und die aus den Lösungen mittels Essigsäure erhaltenen Niederschläge vereinigt. Daneben wurde in der gleichen Weise ein Versuch mit Lauge allein ausgeführt. Nach der Kupfermethode wurden 3,33 g Eiweiß mit 14,00% N erhalten, mit Lauge allein 2,13 g. Zudem war letzteres Präparat noch durch einen nicht stickstoffhaltigen Körper, das amorphe Kohlenhydrat (Paraisodextran) verunreinigt, wie aus seinem niedrigen Stickstoffgehalt (11,70%) hervorgeht. Das Kupferverfahren besitzt den Vorteil, daß das Kohlenhydrat nicht mitgelöst wird, da Salkowski¹⁾ und Yoshimoto²⁾ fanden, daß Kohlenhydrate mit Kupferhydroxyd schwer lösliche Verbindungen liefern. Was nun die Ausbeute angeht, so läßt sie sehr zu wünschen übrig. Sie beträgt beim Kupferverfahren nur 33,2% der nach den Verdauungsversuchen vorhandenen Menge, und bei Anwendung von Lauge allein 21,3%. Dieses Ergebnis bestätigt die Resultate der anderen Forscher, welche durch Neutralisieren der Laugenextrakte nur sehr geringe Niederschläge erhielten. Bei Anwendung sehr verdünnter Laugen (0,1—0,2% Natriumhydrat) gelang es, ein Eiweißpräparat mit 14,3—14,6% Stickstoff zu erhalten. Allein die Ausbeute war noch geringer. Die Ursache davon liegt einerseits darin, daß diese Eiweißkörper durch verdünnte Laugen nicht ganz leicht gelöst werden, andererseits ist die Fällung infolge bereits eingetretener Denaturierung keine vollständige. In allen Fällen nämlich gaben die klaren Filtrate von der Fällung des Proteins mit Essigsäure, Biuretreaktion.

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. 5, S. 220.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 56, S. 425.

Übersicht über die gewonnenen Resultate.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden unternommen, um weitere Aufschlüsse über die stickstoffhaltigen Körper der Pilze zu bekommen. Was die Eiweißkörper anbelangt, so ist hervorzuheben, daß es durch künstliche Verdauung gelingt, einen Rückstand zu erhalten, der keine Eiweißreaktionen mehr zeigt und bei der Spaltung mit Säuren keine Eiweißbasen liefert. Dieser Rückstand besteht aus Chitin und einem Kohlenhydrat von der Klasse der Hemicellulosen (Paraisodextran). Damit ist der Beweis erbracht, daß das Eiweiß in vollständig verdaulicher Form neben einer glukosaminliefernden Chitinsubstanz sich vorfindet. Ob das Eiweiß selbst noch eine Glukosaminkomponente enthält, konnte durch diese Arbeit nicht entschieden werden. Dahin zielende Versuche ergaben bis jetzt ein negatives Resultat. Nach meinen Versuchen gelingt es wohl, mittels verdünnter Lauge die Eiweißsubstanz in Lösung zu bringen: jedoch scheidet sich beim Neutralisieren mit Essigsäure nur ein geringer Teil derselben wieder aus, und man erhält nach dem Abfiltrieren eine Biuretreaktion gebende Lösung. Übrigens ist auch die dabei gewonnene Substanz nicht rein und enthält noch etwas amorphes Kohlenhydrat, das gleichfalls durch die Lauge gelöst wird. Man darf wohl annehmen, daß durch die Lauge eine Denaturierung, bezw. eine partielle Hydrolyse zu wasserlöslichem Eiweiß erfolgt. Daß es sich in der Tat um einen Eiweißkörper handelt, der verschieden ist von den aus Samen darstellbaren Proteinen höherer Pflanzen, geht auch daraus hervor, daß es nicht gelingt, mit 10%iger Kochsalzlösung einen Eiweißkörper in Lösung zu bringen. Ein Eiweißpräparat, das in seinem Stickstoffgehalt dem pflanzlichen Eiweiß nahe kommt, erhält man durch Digerieren des entfetteten und mit Alkohol und Wasser extrahierten Pilzes mit Lauge unter Zusatz von Kupferacetat, da bei dieser Behandlung Kohlenhydrate nicht in Lösung gehen. Bei der Hydrolyse des Pilzeiweißes wurden folgende Aminosäuren erhalten: Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Phenylalanin, Prolin, Asparaginsäure, Glutaminsäure.

Es zeichnet sich durch seinen hohen Gehalt an den beiden niederen Aminosäuren, sowie an Prolin aus. Bei der Trypsin-

verdauung wurde Tyrosin nachgewiesen. Aus dem getrockneten Pilz konnten folgende als solche vorkommende Basen und Aminosäuren isoliert werden: Guanin, Adenin, Hypoxanthin, Trimethylhistidin, Cholin, Trimethylamin, Putrescin, Guanidin, Phenylalanin, Leucin, racemisches Alanin.

Speziell möchte ich hinweisen auf das Auftreten von racemischem Alanin, welches bei weitem die Hauptmenge der frei vorkommenden Aminosäuren ausmacht.

Neben diesen hier angeführten, durch Analyse oder sonstiges Verhalten nachgewiesenen Verbindungen finden sich in den durch Kupferhydroxyd, sowie durch Bleiessig auftretenden Fällungen noch kleine Mengen N-haltiger Substanzen, und es konnte nachgewiesen werden, daß es wenigstens zum Teil Purinkörper sind.

Das «Viscosin» ist anzusehen als ein Gemenge von Glykogen und einer stickstoffhaltigen Substanz, die bei der Hydrolyse einen Purinkörper, der sehr wahrscheinlich Xanthin ist, liefert. Man darf dabei an glykosidartige Verbindungen von Alloxur-basen denken, welche nach neueren Forschungen als Produkte der partiellen Hydrolyse von Nucleinsäuren auftreten. Solche Produkte sind z. B. bei der Hydrolyse von Hefenucleinsäure aufgefunden worden, und der am frühesten bekannte Vertreter dieser Gruppe, das Vernin, findet sich im Mutterkorn.

Bekanntlich werden nach Genuß von eßbaren Pilzen sehr oft Vergiftungserscheinungen beobachtet, die aus der Toxinbildung durch Bakterien erklärt werden. Es ist auch die Möglichkeit vorhanden, daß durch weiteren Abbau der aus dem Eiweiß primär entstehenden Aminosäuren und Basen physiologisch stark wirksame Substanzen erzeugt werden, z. B. Agmatin, Paraoxyphenyläthylamin, Imidazolyläthylamin. Dem letzteren kommt ja in ganz starker Verdünnung, z. B. 1 : 100 000, noch starke Wirkung auf die Darmmuskulatur zu. Es gelang mir nun, den Nachweis zu führen, daß zunächst bei der Autolyse von Pilzen eine Lösung erhalten wird, die auf die Darmmuskulatur eine kräftige Wirkung ausübt. In den Autolyseflüssigkeiten wurden, außer den auch in frischen und in getrockneten Pilzen auftretenden Basen, noch Isoamylamin und Phenyläthylamin ge-

funden, und die Anwesenheit von Paraoxyphenyläthylamin durch Reaktionen wahrscheinlich gemacht. Cholin konnte nicht mehr nachgewiesen werden, und auch das Adenin war verschwunden, ein Beweis, daß auch Purinkörper durch die Autolyse verändert werden können. Durch die Autolyse wird eine Decarboxylierung bewirkt, die sich auf verschiedene primär auftretende Eiweißspaltungsprodukte erstrecken kann, und bei weiteren Untersuchungen mit größeren Materialmengen dürften noch einige andere Basen aufgefunden werden, wofür ich bei meinen Untersuchungen verschiedene Anhaltspunkte gewonnen habe. Neben diesen basischen, durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen werden bei der Autolyse noch beträchtliche Mengen von nicht durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen gefunden.

Von besonderer biologischer Bedeutung wäre nun die Darstellung der Pilzfermente, welche diese Kohlensäureabspaltungen bewirken und die bei der Bildung der einfachen physiologisch wirksamen Basen in den Pflanzen eine große Rolle spielen.

Die nachfolgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung über die Substanzmengen, welche mit den verschiedenen Extraktionsmitteln in Lösung gebracht werden können, sowie über die Zusammensetzung des in diesen Extraktionsmitteln unlöslichen Rückstandes. Die Angaben beziehen sich in runden Zahlen auf 100 g lufttrockenen *Boletus edulis*, deren Feuchtigkeitsgehalt 10% betrug.

Ätherextrakt 4%.

Fett	3,2%
Cholesterin	0,5%
Lecithin	— ¹⁾

Alkoholextrakt 12%.

Trehalose	3,0%
Zucker	} 9%.
Lecithin	
Basen	
Aminosäuren	
Purinkörper usw.	

¹⁾ Die Menge des Lecithins im Äther- und Alkoholextrakt zusammen beträgt nach E. Schulze (l. c.) 1,94%.

Wasserextrakt 28⁰/₀.

Glykogen (Viscosin)	5 ⁰ / ₀
Zucker	} 23 ⁰ / ₀ .
Purinkörper	
Basen	
Aminosäuren	
Asche usw.	

Rückstand 46⁰/₀.

Eiweiß	30 ⁰ / ₀
amorphes Kohlenhydrat	10 ⁰ / ₀
Chitin	6 ⁰ / ₀ .

Die angeführte Zahl für Trehalose bezieht sich auf die Menge, welche direkt aus dem Alkoholextrakt auskrystallisiert. In der Mutterlauge davon bleibt stets ein beträchtlicher Anteil zurück. Auch bei der darauf folgenden Extraktion mit Wasser findet man noch Trehalose, sodaß die angeführte Zahl ein Minimum bezeichnet.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. E. Winterstein, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung diese Arbeit ausgeführt wurde, meinen wärmsten Dank auszusprechen für die vielfache Förderung bei den vorliegenden Untersuchungen.