

Beiträge zur Kenntnis der stickstoffhaltigen Bestandteile des Pilzes Cortinellus shiitake P. Henn.

Von

K. Yoshimura und M. Kanai.

(Aus dem chemischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Hochschule zu Kagoshima,
Japan.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. Juni 1913.)

Der getrocknete Pilz Cortinellus shiitake wird in Japan als kostbare Würze für delikate Speisen viel verwendet.

Man kultiviert die Pilze auf dem gefaulten Holze der Buche, Eiche usw. Die frischen Pilze werden zunächst durch ein Holzkohlenfeuer langsam getrocknet, wobei sich ein eigen- tümlicher angenehmer Geruch und Geschmack entwickelt.

Die Probe, welche zu dieser Untersuchung diente, hatte folgende Zusammensetzung:

Wasser	12,645%
Trockensubstanz	87,355%

In 100 Teilen Trockensubstanz:

Gesamtstickstoff	3,993
Eiweißstickstoff	2,406
Ammoniakstickstoff	0,085
Nicht-Eiweißstickstoff	1,502
Davon { durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	0,397
{ Stickstoff in anderer Form	1,105
Rohfett	0,641
Asche	5,781
Phosphorsäure (P ₂ O ₅)	0,804

Gesamtstickstoff als 100:

Eiweißstickstoff	60,26%
Ammoniakstickstoff	2,13%
Nicht-Eiweißstickstoff	37,61%
Davon { durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	9,94%
{ Stickstoff in anderer Form	27,67%

2 kg lufttrockene zerkleinerte Pilze wurden mit heißem Wasser wiederholt extrahiert, die Auszüge mit Tannin und Bleiessig gereinigt, dann mit Schwefelsäure entbleit und mit Phosphorwolframsäure gefällt.

I. Der Phosphorwolframsäureniederschlag.

Die aus dem Phosphorwolframat in gewöhnlicher Weise dargestellte alkalische Flüssigkeit, welche freie Basen enthielt, wurde mit Salpetersäure neutralisiert und dann mit Silbernitrat versetzt, wobei ein gelbbrauner Niederschlag entstand.

1. Purinbasen (Adenin).

Der Silbernitratniederschlag wurde mit einem Überschuß von Ammoniak behandelt, um die Silbernitratverbindungen der Basen in die Silberverbindungen derselben überzuführen. Die nach Zerlegung der Silberverbindungen mit Salzsäure gewonnenen Chloride wurden in ca. 50 ccm Wasser gelöst und mit einer konzentrierten Natriumpikratlösung versetzt, wobei sich seidenglänzende gelbe Nadeln ausschieden, welche aus heißem Wasser umkrystallisiert wurden. Das Pikrat war in Wasser schwer löslich, aber in Alkohol und Natriumphosphatlösung leicht löslich; im Kapillarrohre erhitzt zersetzte es sich bei 280—281° (unkorr.).

Für die Analyse wurde das Pikrat im Vakuum bei 100° getrocknet.

0,1445 g Substanz gaben 0,09020 g Pikrinsäure.

0,1239 » » » 0,03845 » Stickstoff.

Für Adeninpikrat ($C_5H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7$).

Berechnet:	Gefunden:
62,91% Pikrinsäure	62,42% Pikrinsäure
30,77% N	30,03% N

Das Chloraurat. Ein Teil des Pikrats wurde durch Salzsäure zerlegt, das so erhaltene Chlorid in das Chloraurat übergeführt; das Chloraurat bestand aus glänzenden, orangefarbenen, blattförmigen Aggregaten, welche sich beim Umkrystallisieren aus Wasser leicht zersetzten.

Für die Analyse wurde das Chloraurat aus heißer verdünnter Salzsäure umkrystallisiert und im Vakuum bei 100° getrocknet.

0,1872 g Substanz gaben 0,07850 g Gold.

Für Adeninchloraurat ($C_5H_5N_3 \cdot HCl \cdot AuCl_3$).

Berechnet: 41,50% Au. Gefunden: 41,98% Au.

Im Kapillarrohre erhitzt schmolz das Präparat bei 218° (unkorr.) unter Zersetzung.

Das Sulfat. Das Chlorid wurde mit Ammoniak neutralisiert und dann mit ammoniakalischer Silbernitratlösung versetzt, wobei in reichlicher Menge ein Niederschlag entstand. Das nach Zerlegung des Silberniederschlags erhaltene freie Adenin wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst und in das Sulfat übergeführt, welches in kaltem Wasser ziemlich schwer, aber in warmem Wasser leicht löslich war. Beim langsamen Umkrystallisieren schied es sich in glänzenden, tafelförmigen Krystallen aus.

Im Kapillarrohre erhitzt zersetzte es sich bei 265—270° (unkorr.).

Für die Analyse wurde das Präparat im Vakuumexsikkator getrocknet.

0,1480 g Substanz gaben 0,02924 g SO_3 .

Für Adeninsulfat $[(C_5H_5N_3)_2H_2SO_4 + 2 H_2O]$.

Berechnet: 19,80% SO_3 . Gefunden: 19,76% SO_3 .

Die Mutterlauge des Adeninpikrats wurde noch weiter in gewöhnlicher Weise verarbeitet, doch wurde keine andere Purinbase in genügender Menge isoliert.

2. Der Silbernitrat- und Baryhydratniederschlag.

Das Filtrat vom Silbernitratniederschlag lieferte, in bekannter Weise verarbeitet, auch eine kleine Menge Adenin.

3. Das Filtrat vom Silbernitrat- und Baryhydratniederschlag.

Das Filtrat vom Silbernitrat- und Baryhydratniederschlag wurde in gewöhnlicher Weise wieder mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die aus diesem Niederschlag erhaltene alkalische Flüssigkeit wurde mit überschüssiger Salzsäure angesäuert, eingengt und dann im Vakuumexsikkator krystallisieren gelassen. Die

so erhaltene hygroskopische Krystallmasse wurde in absolutem Alkohol aufgenommen, wobei fast alles in Lösung ging.

Die alkoholische Lösung wurde mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt. Die Quecksilberdoppelsalze wurden mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die gewonnenen Chloride im Vakuumexsikkator stehen gelassen, wobei sich farblose hygroskopische Nadeln ausschieden.

Das Chloraurat. Ein Teil des Chlorides wurde in das Chloraurat übergeführt. Das Chloraurat bestand aus orangegelben Blättchen mit dem Schmelzpunkt 255—262° (unkorr.). Für die Analyse wurde das Präparat im Vakuum bei 100° getrocknet.

1. 0,3707 g Substanz gaben 0,1650 g Gold.

2. 0,4743 » » » 0,2107 » »

Für Cholinchloraurat ($C_5H_{14}NOCl \cdot AuCl_3$).

Berechnet: 44,49% Au. Gefunden: 1. 44,51% Au.

2. 44,42% »

Das Pikrat. Das aus einem Teil des Chlorids dargestellte Pikrat bildete hellgelbe Blättchen, die gegen 130° zuerst schmolzen und sich bei 235—237° (unkorr.) zersetzten.

Zur Isolierung von Betainen wurde die Mutterlauge der Quecksilberdoppelsalze verarbeitet, jedoch gab sie ein negatives Ergebnis.

II. Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag.

Das Filtrat von der ersten Phosphorwolframsäurefällung wurde mittels Barythydrat von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure befreit, der Überschuß des Baryts mittels Schwefelsäure quantitativ beseitigt und im Vakuum stark eingedampft, wobei sich große Mengen von Krystallen ausschieden. Sie bestanden aus Mannit, nebst einer kleinen Menge anorganischer Salze, die durch Behandlung mit heißem Methylalkohol beseitigt wurden. Aus der methylalkoholischen Lösung krystallisierte Mannit in nadelförmigen Krystallen aus. Die Ausbeute an Mannit betrug ca. 50 g. Im Kapillarrohre erhitzt, schmolz

das Präparat bei 166—167° (unkorr.). In jeder Beziehung war es mit reinem Mannit von Merck vollständig identisch.

Die Mutterlauge vom Mannit wurde wieder im Vakuum bis zur zähen Konsistenz eingeengt; der zurückgebliebene Sirup wurde nun mit absolutem Alkohol versetzt, mit trockenem Salzsäuregas gesättigt und nach der Estermethode von E. Fischer in die freien Ester der Aminosäuren verwandelt. Die fraktionierte Destillation der Ester ergab die folgenden vier Fraktionen:

	Estermenge	Ausbeute nach der Verseifung
I. bis 90° (12 mm Druck)	0,6 g	0,5 g
II. 90—110° (12 „ „)	5,0 „	2,2 „
III. 110—160° (12 „ „)	1,5 „	0,9 „
IV. 160—220° (12 „ „)	5,5 „	3,8 „

Fraktion I wurde mit Wasser am Rückflußkühler zur Verseifung so lange gekocht, bis die alkalische Reaktion verschwunden war. Die wässrige Lösung wurde zur Trockne eingedunstet und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht; der unlösliche Teil bestand aus Alanin. Aus heißem Wasser umkrystallisiert bildete es farblose Nadeln von süßem Geschmack; die Ausbeute betrug 0,4 g.

Das Kupfersalz des Alanins bestand aus tiefblauen Blättchen, die in Wasser leicht, aber in Alkohol schwer löslich waren, und gegen 245° schmolzen. Für die Analyse wurde es bei 100° getrocknet.

0,1923 g Substanz gaben 0,05060 g Kupfer.

Für Alaninkupfer $[(C_3H_6NO)_2Cu]$.

Berechnet: 26,52% Cu. Gefunden 26,31% Cu.

Fraktion II. Die durch Verseifung erhaltene Lösung wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol behandelt, wobei ein Teil in Lösung ging; dieser lösliche Teil wurde mit jenem von Fraktion I vereinigt. Beim Eindunsten der alkoholischen Lösung blieb eine kleine Menge sirupösen Rückstandes, der deutlich eine schöne Pyrrolreaktion (Röten eines mit konzentrierter Salzsäure befeuchteten Fichtenspanes) gab.

Das Kupfersalz. Dieser sirupöse Rückstand wurde in bekannter Weise in das Kupfersalz verwandelt, welches aus dunkelblauen Krystallen bestand, welche in Wasser und Alkohol leicht löslich und etwas hygroskopisch waren. Für die Analyse wurde das gereinigte Salz im Vakuum bei 100° getrocknet.

0,1702 g Substanz gaben 0,03664 g. Kupfer.

Für Prolinkupfer $[(C_3H_8NO_2)_2 Cu]$.

Berechnet: 21,79 % Cu. Gefunden: 21,52 % Cu.

Der alkoholunlösliche Teil, der aus Alanin und Leucin bestand, wurde in Kupfersalze verwandelt, die sich infolge ihrer ungleichen Löslichkeit in Wasser in die folgenden zwei Fraktionen trennen ließen.

a) Das in Wasser leicht lösliche Kupfersalz bildete tiefblaue Krystalle, welche in Aussehen und im Schmelzpunkt mit Alaninkupfer übereinstimmten.

0,1246 g Substanz gaben 0,03301 g Kupfer.

Für Alaninkupfer $[(C_3H_6NO_2)_2 Cu]$.

Berechnet: 26,52 % Cu. Gefunden: 26,49 % Cu.

b) Das in Wasser schwer lösliche Kupfersalz bildete blaßblaue Krystalle, die sich im Kapillarrohre gegen 290° (unkorr.) zersetzten.

0,1552 g Substanz gaben 0,0310 g Kupfer.

Für Leucinkupfer $[(C_6H_{12}NO_2)_2 Cu]$.

Berechnet: 19,64 % Cu. Gefunden: 19,97 % Cu.

Fraktion III wurde mit der 4—5fachen Menge Wasser versetzt, wobei eine ölige Trübung auftrat, weshalb diese Flüssigkeit mit Äther wiederholt ausgeschüttelt wurde. Die vereinigten ätherischen Lösungen wurden langsam eingedunstet, der Rückstand mit konzentrierter Salzsäure abgeraucht, wobei eine dunkel gefärbte Masse zurückblieb.

Zur Identifizierung des Phenylalanins wurde sie mit einer kleinen Menge Wasser aufgenommen, mit Ammoniak neutralisiert und stehen gelassen. Die dabei erhaltene geringe Menge einer gelbbraunen Abscheidung wurde mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure erhitzt, wobei der charakteristische Geruch nach Phenylacetaldehyd wahrzunehmen war.

Die von der ätherischen Lösung getrennte wässrige Flüssigkeit wurde am Rückflußkühler zur Verseifung gekocht und dann zur Trockne eingedunstet; der Rückstand betrug nach dem Umkrystallisieren aus Wasser 0,9 g und bestand vollständig aus Leucin. Im Kapillarrohre erhitzt, schmolz das Präparat bei 270—280° (unkorr.) unter Zersetzung.

Das Kupfersalz des Leucins:

0,1601 g Substanz gaben 0,0308 g Kupfer.

Für Leucinkupfer $[(C_6H_{12}NO_2)_2 Cu]$.

Berechnet: 19,64% Cu. Gefunden: 19,24% Cu.

Fraktion IV wurde mit Barytwasser verseift und nach dem Entfernen des Baryts mittels Schwefelsäure stark eingedunstet. Der so erhaltene Sirup wurde mit Wasser aufgenommen und in das Kupfersalz umgewandelt. Nach dem Umkrystallisieren wurden 0,5 g reines Salz erhalten mit dem Schmelzpunkt ca. 232° (unkorr.).

Für die Analyse wurde das Präparat im Vakuum bei 100° getrocknet.

0,3400 g Substanz gaben 0,10106 g Kupfer.

» » » 0,02114 g Stickstoff.

Für glutaminsaures Kupfer $(C_5H_7NO_4 Cu)$.

Berechnet: Gefunden:

30,49% Cu. 29,72% Cu.

6,71% N. 6,22% N.

Aus 2 Kilo lufttrockener Pilze wurden gewonnen:

Adenin	0,40 g
Trimethylamin	Spur
Cholin	0,41 g
Alanin	1,60 »
Leucin	2,30 »
Glutaminsäure (Kupfersalz) . .	0,50 »
Prolin	0,30 »
Phenylalanin	wenig
Mannit	50,00 g