

Über einige basische Extraktivstoffe des Fliegenpilzes. (*Amanita muscaria*).

Von
Albert Küng.

(Mitteilung aus dem chemischen Laboratorium der Kantonsschule Solothurn, Schweiz.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. Mai 1914.)

Die nachfolgenden Untersuchungen sind als weiterer Beitrag zu den im agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich von E. Winterstein¹⁾ und seinen Schülern ausgeführten Arbeiten über die chemische Zusammensetzung der höheren Pilze zu betrachten. Sie reihen sich ferner den von E. Schulze und G. Trier,²⁾ K. Joshimura und G. Trier,³⁾ N. T. Delaneo und G. Trier,⁴⁾ A. Küng und Trier⁵⁾ und A. Küng⁶⁾ ausgeführten Arbeiten über die in den Pflanzen vorkommenden Betaine an.

Das Muscarin, die am meisten interessierende Base, die von O. Schmiedeberg und R. Koppe⁷⁾ zuerst als giftiges Prinzip des Fliegenschwammes erkannt, isoliert und später von E. Harnack⁸⁾ und O. Schmiedeberg und E. Harnack⁹⁾ näher beschrieben und synthetisch erhalten wurde, konnte nach dem von mir eingeschlagenen Gange der Untersuchung a priori nicht erwartet werden. Nachdem die Eiweißstoffe mit Bleiessig abgeschieden waren, wählte ich das heute allgemein

¹⁾ Literaturzusammenstellung siehe C. Reuter, Diese Zeitschrift, Bd. 78, S. 167.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 67, S. 46—58; Bd. 76, S. 258—290, Bd. 79, S. 235—242.

³⁾ Ebenda, Bd. 77, S. 290—302.

⁴⁾ Ebenda, Bd. 79, S. 243—246.

⁵⁾ Ebenda, Bd. 85, S. 209—216.

⁶⁾ Ebenda, Bd. 85, S. 217—224.

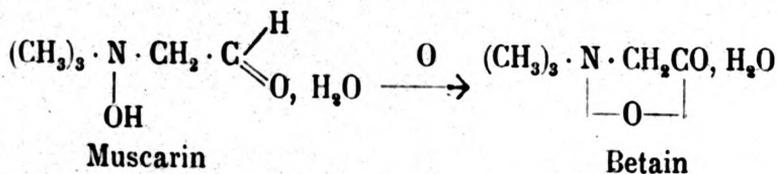
⁷⁾ Das Muscarin, Leipzig 1869.

⁸⁾ Archiv für exp. Pathologie, Bd. 4, S. 168.

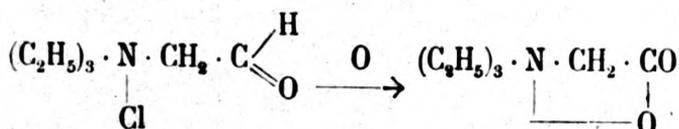
⁹⁾ Ibid., Bd. 6, S. 101—112.

übliche Verfahren von A. Kossel, wonach die Alloxurbasen mit Silbernitrat ausgefällt werden. Aus dem Filtrat lassen sich unter Zuhilfenahme von Silbernitrat und Baryt die Basen der Arginin- und Histidinfraktion voneinander trennen. Die durch obige Fällungsmittel nicht fällbaren Verbindungen sind durch Phosphorwolframsäure abzuscheiden und bilden die sogenannte Lysinfraktion.

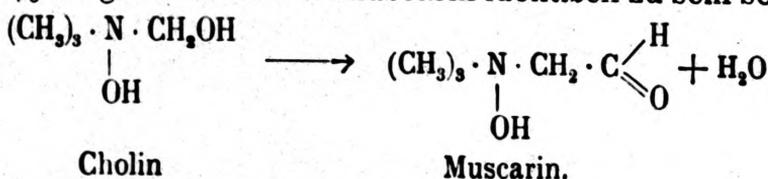
Ist das Muscarin eine quaternäre Ammoniumbase, so muß es neben Cholin, das schon von E. Harnack als physiologisch unwirksame Base im Fliegenschwamm nachgewiesen wurde, in dieser Fraktion sich finden lassen. Die Wahrscheinlichkeit, Muscarin aus der Lysinfraktion zu erhalten, erscheint indessen gering, da diese Base als leicht oxydabler Aldehyd nach längerer Behandlung in barytalkalischer Silberlösung zu Glykokollbetain oxydiert worden sein dürfte, gemäß folgender Reaktionsgleichung:



Bei einem ganz ähnlichen Präparate, dem Triäthylaldehyd-ammoniumchlorid, wirkte Silberoxyd oxydierend und ergab glatt das entsprechende Betain: ¹⁾

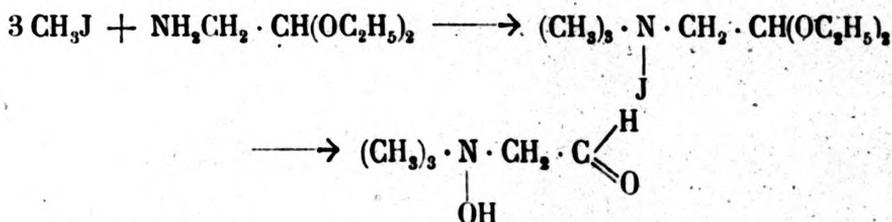


Nachdem es Schmiedeberg gelungen war, das Muscarin zu isolieren, und seine nahen Beziehungen zum Cholin und Betain erkannt waren, haben Schmiedeberg und Harnack versucht, durch Oxydation von Cholinchloroplatinat Muscarin darzustellen. Sie haben auch wirklich eine Base erhalten, welche in ihrer Zusammensetzung dem Betinaldehyd entspricht und ähnliche toxische Eigenschaften besitzt wie das Muscarin, ja sogar mit dem Pilzmuscarin identisch zu sein scheint.

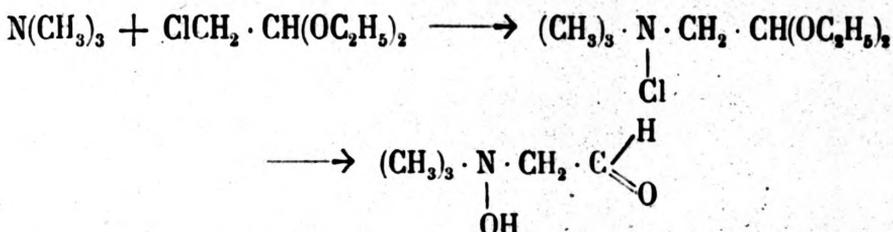


¹⁾ B. B., Bd. 30, S. 1508.

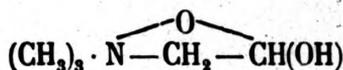
Als Oxydationsmittel wurde konzentrierte Salpetersäure angewendet. Die große Beständigkeit des Muscarins gegenüber diesem energischen Oxydationsmittel ist recht auffällig. E. Fischer¹⁾ erhielt ferner bei der erschöpfenden Methylierung von Acetalamin mit Jodmethyl eine Base, welche nach Verseifung mit Salzsäure in ihrer Zusammensetzung dem Muscarin entspricht:



Derselbe²⁾ hat sodann nachgewiesen, daß die Berlinerblausche Base,³⁾ erhalten durch Kondensation von Trimethylamin mit Monochloracetal und darauffolgende Verseifung,



mit der Base von Fischer identisch ist. Wegen ihrer außerordentlichen Beständigkeit gegenüber Alkalien zieht Fischer die Formel



der bisher üblichen vor, läßt aber die Frage offen, ob dieses synthetische Produkt dem natürlichen Muscarin entspricht. Fischer stellte diesbezügliche Versuche in Aussicht, hat aber seither nichts hierüber veröffentlicht.

Endlich hat Notnagel⁴⁾ eine dem Platinsalz des Pilz- und Cholinmuscarins ähnliche Verbindung erhalten, indem er salzsaures Betain mit Natriumamalgam reduzierte. Notnagel ließ die Frage unentschieden, inwieweit dieses Reaktionsprodukt

¹⁾ B. B., Bd. 26, S. 468.

²⁾ B. B., Bd. 27, S. 166.

³⁾ B. B., Bd. 17, S. 1139.

⁴⁾ B. B., Bd. 26, S. 801.

mit Muscarin in Beziehung steht. Mit obiger Tatsache stehen die Befunde von Willstätter und Kahn¹⁾ in direktem Widerspruch, welche in exakten Versuchen gezeigt haben, daß die aliphatischen Betaine gegenüber Natriumamalgam sehr beständig sind und sich nicht reduzieren lassen. Dasselbe Verhalten konnten C. Neuberg²⁾ und fast gleichzeitig E. Fischer³⁾ für die Aminosäuren beweisen, dagegen gehen die entsprechenden Ester nach Behandlung mit Natriumamalgam leicht in die Aminoaldehyde über.

Eine weitere Diskussion der Muscarinfrage hat einstweilen noch keinen positiven Wert. Es genügt, wenn gezeigt wurde, daß die Konstitution des Muscarins noch nicht völlig abgeklärt ist, und daß neue Versuche mit großen Substanzmengen nötig sind, um der Frage näher treten zu können. Dies gilt vor allem für das Pilzmuscarin. Erst dann lassen sich Vergleiche mit synthetischen Präparaten in chemischer und physiologischer Richtung durchführen.

Wie einleitend erörtert wurde, konnte nach der von mir gewählten Darstellungsmethode kein Muscarin erwartet werden. Schmiedeberg und Koppe fällten ihr Muscarin mit Wismutkaliumjodid oder mit Kaliumquecksilberjodid aus. Die Fällung kann aber unmöglich nur aus Cholin und Muscarin bestanden haben; denn obige Reagentien fällen auch die Betaine und andere Basen. Merkwürdig erscheint eine Mitteilung von Honda,⁴⁾ der das Muscarin des Fliegenpilzes aus dem Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlags erhalten haben will.

In Übereinstimmung mit Schmiedeberg und Harnack habe ich in der Lysinfraktion stets beträchtliche Mengen von Cholin nachgewiesen, welches als Chloroplatinat je nach den Bedingungen in sehr verschiedenen Formen auskristallisierte. Das von C. Reuter in *Boletus edulis* nachgewiesene Putrescin konnte von mir auch im Fliegenpilz neu aufgefunden werden. Das

¹⁾ B. B., Bd. 37, S. 1858.

²⁾ B. B., Bd. 41, S. 956.

³⁾ B. B., Bd. 41, S. 1019.

⁴⁾ Arch. für exp. Pathologie, Bd. 65, S. 454.

Betain ist bisher unter den höheren Pilzen nur von F. Kutscher¹⁾ aus einem Champignonpräparat (*Herzynia*) und von C. Reuter aus *Boletus edulis* isoliert worden. In meinen Fliegenpilzextrakten konnte dieselbe Base gefaßt werden. Ferner ist das von Kutscher in derselben Arbeit entdeckte Histidinbetain (*Herzynnin*), das Reuter auch aus *Boletus* erhielt, als neues Vorkommnis im Fliegenschwamm wahrscheinlich gemacht. Das Putrescin dürfte auf Fäulnisprozesse zurückzuführen sein, die sich selbst bei raschem Trocknen nie ganz vermeiden lassen. Ob endlich das Betain im Fliegenpilz ursprünglich sich vorfindet oder aber durch Oxydation von Muscarin während der Aufbereitung entstanden ist, konnte nach den bisherigen Versuchen nicht entschieden werden.

Experimenteller Teil.

Die Fliegenpilze sind im Herbst 1911 in jungen Tannensäulen in der Umgebung von Solothurn gesammelt und entweder in frischem oder in getrocknetem Zustande verarbeitet worden. Der Wassergehalt betrug durchschnittlich 90—93 %.

I. Versuch.

Es wurden ca. 17 kg ungetrockneter Pilze in einer Fleischhackmaschine zerkleinert und auf einer Differentialpresse scharf abgepreßt, wobei 12 l Pilzsaft abflossen. Nach Entfernung der Eiweißstoffe mit Bleiessig und des überschüssigen Bleies durch Schwefelsäure wurde unter Anwendung von Windrad und Turbine bei gewöhnlichem Druck auf dem Wasserbade konzentriert. Um die vorhandenen Aminosäuren und Kohlenhydrate von den Basen zu trennen, fällte ich aus schwefelsaurer Lösung mit Phosphorwolframsäure, wozu ungefähr 1 kg erforderlich war. Der Niederschlag wurde scharf abgepreßt, zerkleinert, mit 5%iger Schwefelsäure wiederholt gut ausgewaschen und schließlich auf bekannte Weise mit Barytpulver in wässriger Suspension in der Kälte zersetzt. Das in reichlicher Menge entweichende Ammoniak wurde im Vakuum durch einen Luft-

¹⁾ Zeitschr. für Nahrungs- und Genußmittel, 1911, Bd. 21, S. 535.

strom vollends ausgetrieben. Auf Trimethylamin, das im Fliegenpilz nachgewiesen ist, wurde nicht geprüft. Aus der so erhaltenen Lösung ließ sich nach Beseitigung des Baryts mit Kohlensäure und Schwefelsäure die Silber-Baryt-Trennung nach Kossel vornehmen.

Die Alloxurbasenfällung wurde nicht weiter untersucht. Die Histidinsilberfällung lieferte bei der Aufteilung keine krystallisierbaren Verbindungen. Auch die Pikrate gaben zum größten Teil schmierige Massen. Die Histidinreaktion fiel negativ aus. Aus der Argininfraktion ließen sich ebenfalls keine krystallinischen Verbindungen abscheiden. Die durch Neutralisation mit Salpetersäure erhaltenen Nitrate blieben sirupös, desgleichen die entsprechenden Kupferdoppelsalze, welche intensiv grüne Farbentöne zeigten, während das Argininkupfernitrat tief blau gefärbt ist und infolge seiner Schwerlöslichkeit leicht auskrystallisieren würde. C. Reuter ist es gelungen, in der Argininfraktion von *Boletus edulis* das Histidinbetain nachzuweisen, eine Base, welche kurz zuvor F. Kutscher in einem «Herzynia» genannten Champignonpräparate in der Lysinfraktion entdecken konnte. Dieselbe Verbindung scheint auch im Fliegenpilz vorhanden zu sein. Infolge Explosion des Exsikkators ging die ganze Fraktion verloren.

Das Filtrat der Argininfraktion wurde durch Fällern mit Salzsäure entsilbert und schließlich durch Behandeln mit verdünnter Schwefelsäure von Baryum befreit. Aus der Lösung, welche ca. 5% freie Schwefelsäure enthält, wurden die restierenden Basen mit Phosphorwolframsäure ($\frac{1}{2}$ kg) gefällt. Nach gründlichem Auswaschen des Niederschlages mit 5%iger Schwefelsäure wurden auf bekannte Weise die freien Basen regeneriert. Sie bilden die sogenannte Lysinfraktion. Die von Baryt befreite Lösung wurde nun mit Salzsäure angesäuert und auf dem Wasserbade eingengt. Es verblieb eine sirupöse Masse, welche durch wiederholtes Einengen mit absolutem Alkohol entwässert werden konnte. Die in reichlicher Menge vorhandenen Kalisalze wurden durch Auskochen mit absolutem Alkohol entfernt und das Filtrat eingedampft und im Vakuum-exsikkator getrocknet. Beim Verreiben mit kaltem absolutem

Alkohol gab der Sirup bis auf einen geringen Rest alles an das Lösungsmittel ab. Der unlösliche Anteil erwies sich, wie im zweiten Versuche gezeigt werden soll, als salzsaures Betain. Aus der alkoholischen Lösung fällte ich die Basen mit alkoholischer Sublimatlösung. Es entstand zunächst eine weiße flockige Fällung, und auf weiteren Zusatz des Fällungsmittels schied sich ein braunes Öl aus. In einer Kältemischung erstarrte alles zu einer teigigen Masse, die sich nunmehr leicht von der darüber befindlichen Lösung trennen ließ. Die Mercurisalze konnten aus siedendem Wasser umkrystallisiert werden und ergaben eine gelb-braun gefärbte Krystallisation, welche nach Zerlegung mit Schwefelwasserstoff ein äußerst hygroskopisches, krystallinisches Chlorid lieferten, das in kaltem absoluten Alkohol sich restlos löste. Nun fällte ich mit Platinchlorid und erhielt einen Niederschlag, der aus der nötigen Menge Wasser umkrystallisiert wurde. Die einzelnen Krystallisationen waren in ihrem Aussehen etwas verschieden, zeigten aber alle, im Kapillarrohr erhitzt, annähernd denselben Zersetzungspunkt von ca. 230° . Die vereinigten Fraktionen gaben bei langsamer Verdunstung aus wässriger Lösung schöne, zu Drusen vereinigte Krystallaggregate, die sich als Cholinchloroplatinat erwiesen.¹⁾ Z.-P. = $237-238^{\circ}$. Zur Analyse wurde bei 105° getrocknet.

0,0816 g gaben bei der Veräscherung 0,0255 g Platin.

Für Cholinchloroplatinat $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$, ber.: 31,64% Pt.

gef.: 31,47% Pt.

Das alkoholische Filtrat der Quecksilberchloridfällung wurde eingedunstet und ergab nach Zerlegung mit Schwefelwasserstoff nur einen sehr geringen Rückstand, der nicht verarbeitet werden konnte. Die wässrige Mutterlauge der umkrystallisierten Quecksilberchloridverbindungen wurde in gleicher Weise behandelt. Das Chloridgemisch hinterließ nach Entfernung der Kalisalze ein in Nadeln krystallisierendes Salz,

¹⁾ Unter diesen Bedingungen wurde stets die monokline Form erhalten. Durch Abkühlen der wässrig-alkoholischen Lösung erhält man reguläre Krystalle. Vgl. hierüber M. Kauffmann und D. Vorländer: B. B., Bd. 43, S. 2735 (1910).

das bei der trockenen Destillation intensive Fichtenspanreaktion gab und, als Chloroplatinat gefällt, in reinem Zustande erhalten wurde. Es krystallisiert aus Wasser in Form sechsseitiger Blättchen, welche keinen scharfen Zersetzungspunkt besitzen und aus Putrescin bestehen. Zur Analyse wurde bei 105° getrocknet und verascht:

0,7952 g Substanz gaben	0,3116 g Platin.
Berechnet für $C_4H_{14}N_2PtCl_6$:	39,15% Pt.
Gefunden:	39,16% Pt.

Der in kaltem absoluten Alkohol lösliche Anteil enthielt noch geringe Mengen Cholin. Neben Cholin und Putrescin scheinen in der Lysinfraktion des Fliegenpilzes noch andere Basen vorhanden zu sein; denn es verblieben in dem das Cholin einschließenden Anteil stets beträchtliche Mengen eines Sirups, der auf keine Weise zur Krystallisation zu bringen war.

II. Versuch.

Es wurden 2750 g getrockneter Pilzhüte in einer Mühle zerkleinert. Das Material, welches einen scharfen, jedoch nicht unangenehmen Geruch aufweist, enthält 10% Wasser. Es wurde dreimal in der Kälte mit 70—80%igem Alkohol ausgezogen und der Rückstand jedesmal scharf abgepreßt. Die letzte Operation ergab nach dem Abdampfen des Alkohols nur noch einen sehr geringen Rückstand. Alle drei dunkelbraun gefärbten Extrakte wurden vereinigt, in Wasser aufgenommen, im Scheidetrichter von dem an der Oberfläche schwimmenden Fett, Lecithin und Cholesterin getrennt und die wässrige Lösung mit Äther geschüttelt, um diese Stoffe nach Möglichkeit zu entfernen. In den übrigen Punkten folgte ich dem im ersten Versuche beschriebenen Gang der Untersuchung.

Aus der Argininfraktion konnte nach Entfernung des Silbers und des beigemischten Baryts und nachfolgender Abscheidung mit Phosphorwolframsäure aus dem Niederschlag ein nur schwach alkalisch reagierender Sirup erhalten werden, der auf Zusatz von alkoholischer Pikrinsäurelösung eine gelbbraun gefärbte Fällung lieferte, die in heißem Wasser gelöst wurde und beim Erkalten zuerst ein flockiges Pikrat abschied,

auf das nach längerem Stehen schöne, zu Drusen vereinigte glänzende Blättchen folgten. Beide Pikrate besaßen denselben Zersetzungspunkt von $201-202^{\circ}$, der nach einmaliger Krystallisation aus Wasser sich nicht mehr änderte. Das Präparat stimmt sowohl im Aussehen als auch im Zersetzungspunkt mit dem von C. Reuter beschriebenen Herzyninmonopikrat (Pikrat des Histidinbetains) überein. Das Pikrat wurde durch Zusatz von Salzsäure in das Chlorid übergeführt und die Pikrinsäure mit Äther entfernt. Goldchlorid erzeugt eine Fällung, welche bei $118-120^{\circ}$ unzersetzt schmilzt, während Reuter für das entsprechende Herzyninsalz 184° , Kutscher $180-182^{\circ}$ angibt. Zu einer Goldbestimmung reichte die Substanz nicht aus.

Die Lysinfraktion wurde durch Fällen mit Phosphorwolframsäure abgeschieden, gründlich ausgewaschen und in der Kälte mit Baryt zersetzt. Die in Chloride verwandelte Substanz lieferte einen dicken, braunen Syrup, der im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet und zur Entfernung der Asche mit absolutem Alkohol ausgekocht wurde. Um zu reineren Fraktionen zu gelangen, wurde mit alkoholischer Sublimatlösung versetzt. Das Verhalten war dasselbe wie in Versuch I: Es fielen zuerst weiße flockige Anteile aus, auf welche eine schwere, braun gefärbte, ölige Masse folgte. Aus heißem Wasser umgelöst, schied sich beim Erkalten ein weißes, flockiges Pulver aus, von dem abfiltriert wurde. Dieses schwer lösliche Doppelsalz enthielt das Cholin. Die in Chlorid übergeführte Substanz war in kaltem, absolutem Alkohol sehr leicht löslich, während das Goldsalz in Wasser sehr schwer löslich ist. Unter dem Mikroskop betrachtet, erscheint die Substanz in den für Cholinchloraurat charakteristischen Blättchen. Fp. = 254° (bei langsamem Erhitzen). Zur Analyse wurde das Goldsalz bei 105° getrocknet.

0,2105 g Substanz gaben 0,0945 g Au.

Berechnet für $C_5H_{14}NO \cdot AuCl_4$: Au = 44,50%

Gefunden: Au = 44,88%

Das Platinsalz, aus wässriger Lösung durch langsame Verdunstung erhalten, bildete schöne, orange gefärbte Krystalltafeln. Fp. = 243° .

Der in Wasser leichter lösliche Anteil des Mercurichloridniederschlages bildete die Hauptmenge der Basen. Die in Chloride verwandelte Substanz lieferte im Exsikkator einen Sirup, der mit kaltem absolutem Alkohol verrieben wurde, wobei nur ein Teil in Lösung ging. Das schwer lösliche Chlorid gab keine Fichtenspanreaktion. Putrescin, das im ersten Versuche gefunden wurde, war demnach nicht vorhanden, dagegen das gewöhnliche Betain, das nach einmaliger Umkrystallisation aus Wasser in den für Betainchlorid eigentümlichen Prismen erschien. Fp. = 235—237°. Nicht hygroskopisch.

Das Goldsalz bildet helle, glänzende, meist vierseitige Täfelchen. Fp. = 233—234°. Nach dem Trocknen bei 105° wurde der Goldgehalt bestimmt.

0,0814 g gaben 0,0352 g Au.

Berechnet für $C_5H_{12}NO_2AuCl_4$: Au = 43,14%

Gefunden: Au = 43,40%

Die beim Verreiben mit Alkohol in Lösung gegangene Substanz erwies sich ebenfalls als Betainchlorid.

0,0708 g gaben 0,0307 g Au = 43,36%.

Das Filtrat der aus Wasser umkrystallisierten Mercuridoppelsalze enthielt Cholin, das aber von anderen Verbindungen verunreinigt war, die sich durch einfache Krystallisation nicht beseitigen ließen. Die auf Zusatz von Goldchlorid erhaltene Fällung war dunkler gefärbt als die des reinen Cholins. Auch unter dem Mikroskop konnten keine wohl ausgebildeten Formen erkannt werden. Für eine Goldbestimmung wurde bei 105° getrocknet.

0,1222 g gaben 0,0541 g Au = 44,27%.