

Zusammenfassung.

Die Synthese von 1-[Cyclohexen-(1')-yl-(1')]-2-cyclohexyl-äthylen aus Hexyliden-acetaldehyd und Bromcyclohexan wird beschrieben. Die Eigenschaften dieses Produktes und seines Isomeren, des Dicyclohexyliden-äthans, werden verglichen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

103. Isolierung von Muscarin aus *Inocybe Patouillardii* (Bres.)

4. Mitteilung¹⁾ über Muscarin

von C. H. Eugster.

(4. IV. 57.)

Der ziegelrote Risspilz (*Inocybe Patouillardii* (Bres.) s. *lateraria Ricken*) wird in der pilzkundlichen Literatur übereinstimmend als stark giftig beschrieben. Es sind, verursacht durch den Genuss solcher Pilze, eine grössere Zahl von Vergiftungsfällen mit einer Mortalität von ca. 8% beschrieben worden, deren Verlauf auf eine reine Muscarin-intoxikation schliessen lässt³⁾. Mit Hilfe des Froschtestes haben *Wicki* und *Loup* den Muscaringehalt einer Reihe von *Inocybe*-Arten festzustellen versucht⁴⁾ und Extrakte aus dem ziegelroten Risspilz als besonders aktiv befunden. Chemisch nachgewiesen wurde Muscarin darin bisher noch nicht.

Durch die Freundlichkeit von PD. Dr. *E. Schlittler* (Botanischer Garten der Universität Zürich) kamen wir 1956 in den Besitz von 150 g botanisch einwandfrei identifizierter frischer Risspilze. Deren übliche Aufarbeitung⁵⁾ ergab aus der Fraktion der quaternären Basen 1,00 g Reineckate, die grossteils in Aceton löslich waren. Die daraus gewonnenen Chloride erwiesen sich papierchromatographisch als sehr reich an Muscarin. Sie wurden hierauf zur weiteren Reinigung in wässriger Lösung durch eine kurze Säule des Ionenaustauschers Amberlite JRA 400 (OH⁻) perkoliert, wobei Muscarin und Cholin rasch durch die Säule wanderten⁶⁾. Nach Neutralisation des Perkolates mit

¹⁾ 3. Mitteilung, Helv. **39**, 1023 (1956).

²⁾ *A. E. Alder*, Schweiz. Z. für Pilzkunde **26**, 17 (1948); **31**, 33 (1953).

³⁾ *Z. B. W. Mecke*, Arch. exp. Path. Pharm. **175**, 23 (1934).

⁴⁾ *B. Wicki*, Bull. Soc. mycol. Genève **11**, 14 (1928); *Claudine Loup*: Etude toxicologique de 33 *Inocybe*, Thèse 114, doctorat en médecine dentaire, Genève 1938.

⁵⁾ Helv. **39**, 1002 (1956).

⁶⁾ Dieser Reinigungsschritt hat sich besonders bei der Aufarbeitung von Fliegenpilz-konzentraten bewährt. Ionenaustauscher in der H⁺-Form zur Reinigung von Muscarin-Fractionen sind von *F. A. Kuehl*, *N. Lebel* & *J. W. Richter*, J. Amer. chem. Soc. **77**, 6663 (1955), und von *K. Balenovic* & *Z. Stefanac*, Chemistry & Ind. **1956**, 23, vorgeschlagen worden. Nach unseren Erfahrungen wird Muscarin in der sauren Säule dabei teilweise verändert.

Salzsäure und Eindampfen der Lösung folgte die übliche Auftrennung des Chloridgemisches an einer Cellulose-Säule. Aus den muscarinhaltigen Fraktionen liessen sich mit 20-proz. Goldchlorwasserstoffsäure sehr leicht 137 mg reines Muscarin-tetrachloraurat kristallin abscheiden. Zerlegung mit Schwefelwasserstoff und Kristallisation aus Isopropanol-Aceton ergab Muscarinchlorid vom Smp. 180°.

Verglichen mit Fliegenpilzen enthält der ziegelrote Risspilz somit die etwa 120fache (Fliegenpilzernte 1953) bis 380fache (Fliegenpilzernte 1954) Menge Muscarin. Die Reindarstellung ist wesentlich einfacher als aus Fliegenpilzen.

Experimentelles. 150 g ziegelrote Risspilze, welche Ende Juni 1956 im Sihltal gesammelt worden waren, wurden zerschnitten und mit 95-proz. Äthanol bei Zimmertemperatur und ein zweites Mal in der Wärme extrahiert. Nach dem Filtrieren und Eindampfen der roten Extrakte im Vakuum unter Stickstoff löste man den Rückstand in Wasser und extrahierte die Lösung mehrmals mit Benzol und schliesslich mit Äther. Die klare, rotbraune wässrige Lösung wurde wiederum im Vakuum konzentriert und darauf mit einer gesättigten Lösung von Ammoniumreineckat versetzt. Den kristallinen Niederschlag nutschte man nach einigem Stehen ab und wusch ihn mit Eiswasser. Er wog nach dem Trocknen 1,00 g. Davon waren 810 mg leicht löslich in 20 cm³ warmem abs. Aceton. Die Zerlegung des Reineckates wurde mit 373,5 mg Ag₂SO₄ und 291,9 mg BaCl₂·2H₂O durchgeführt. Die dadurch erhaltene Chloridlösung dampften wir im Vakuum zur Trockene. Der Rückstand wurde in abs. Äthanol gelöst und von anorganischen Salzen durch Filtration getrennt. Die Alkohollösung wurde wieder zur Trockene eingedampft und der Rückstand in Wasser gelöst und durch eine Säule aus 5 g Amberlite IRA 400 (OH⁻) perkoliert. Wir wuschen solange mit Wasser nach, bis das ablaufende Wasser nur noch schwach alkalisch reagierte. Nach Neutralisation der wässrigen Lösung mit 0,5-n. HCl dampfte man wieder zur Trockene und löste den Rückstand unter Zuhilfenahme von etwas Methanol in Butanol, das mit NH₃-Wasser (1:9) äquilibriert worden war. Die Lösung wurde auf eine Säule von 60 g Cellulosepulver (*Whatman* Standard Grade) aufgetragen und mit dem gleichen Lösungsmittel entwickelt. Wir fingen Fraktionen à 100 Tropfen auf. Muscarin erschien in den Fraktionen 93–159. Nach dem Vereinen und Eindampfen dieser Fraktionen lösten wir den Rückstand in etwas Wasser und behandelten ihn mit Norit. Nach erneuter Filtration und Konzentration auf 1 cm³ wurde mit 20-proz. Goldchlorwasserstoffsäure (in 0,1-n. HCl) tropfenweise versetzt. Die auftretenden Niederschläge wurden durch Erwärmen gelöst. Nach dem Anreiben kristallisierte das Aurat sofort aus. Ausbeute 137 mg, Smp. 118–121°. Nach der Zerlegung mit Schwefelwasserstoff in Wasser-Methanol hat es sich als vorteilhaft erwiesen, zuerst den gelösten Schwefelwasserstoff im Vakuum zu entfernen und hierauf die Lösung mit frisch bereitetem Silberchlorid durchzuschütteln. Nach Eindampfen und Umkristallisieren wurde Muscarinchlorid in 90-proz. Ausbeute erhalten. Smp. 180°.

Ich danke Herrn PD. Dr. E. Schlittler für die Überlassung des Pilzmaterials.

Zusammenfassung.

Aus dem ziegelroten Risspilz (*Inocybe Patouillardii* Bres.) konnte Muscarin in guter Ausbeute isoliert werden.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.