

Zur Chemie des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria* L.)

(IV. Mitteilung)

von

Dr. **Julius Zellner.**

(Mit 1 Textfigur.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 15. Dezember 1910.)

Vor mehreren Jahren habe ich von den Resultaten Mitteilung gemacht, welche mir eine eingehende Untersuchung der chemischen Zusammensetzung des Fliegenpilzes geliefert hatte. In bezug auf diesen Gegenstand haben sich seitdem einige weitere, die früheren Beobachtungen ergänzende Tatsachen ergeben, über welche ich in den folgenden Zeilen kurz berichten möchte.

I.

Ich habe seinerzeit¹ aus dem Fliegenpilz einen Körper isoliert, den ich auf Grund seiner Eigenschaften mit dem Tanret'schen Ergosterin identifizieren zu dürfen glaubte. Schon damals habe ich angegeben, daß die Reindarstellung dieses Körpers auf Schwierigkeiten stößt,² und habe später die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um ein Gemisch zweier sehr ähnlicher Substanzen handelt.³ Inzwischen ist es mir gelungen, den ergosterinartigen Körper und seinen Begleiter in nahezu reinem Zustand herzustellen und deren Eigenschaften genauer zu studieren.

¹ Monatshefte für Chemie, 1905, p. 738.

² Monatshefte, 1905, p. 265 und 268.

³ Chemie der höheren Pilze, 1907, p. 33.

Es wurde folgermaßen verfahren: die Rohabscheidung des ergosterinartigen Körpers,¹ welche zur Beseitigung verseifbarer Stoffe zweimal aus alkalihaltigem Alkohol umkrystallisiert worden war, wird in der etwa 20fachen Menge 90prozentigen Alkohols in der Siedehitze gelöst, sodann die Lösung durch Einsenken in kaltes Wasser und Umschwenken auf 50 bis 55° abgekühlt und die ausgeschiedene Krystallisation in einem Warmwassertrichter bei gleicher Temperatur abgesaugt (Partie A). Die abgesaugte Mutterlauge bleibt einige Stunden stehen, bis sie vollständig abgekühlt ist, die dabei ausgeschiedene Substanz wird abfiltriert (Partie B) und die davon abfließende Lösung durch Destillation vom Alkohol befreit, wobei sich ein Rückstand (C) ergibt. Aus der Partie A erhält man bei öfterem Wiederholen der erwähnten Prozedur bald einen einheitlich aussehenden Körper, welcher die seinerzeit angegebenen Eigenschaften besitzt, bei 154° sintert, jedoch erst bei 159° völlig schmilzt. Weiter konnte der Schmelzpunkt nicht gesteigert werden. Der Körper ist in reinem Zustand auch in heißem Alkohol nur schwer löslich, in Benzol, Toluol, Essigester, Äther, Aceton und Petroläther löst er sich nur in der Wärme leicht, hingegen wird er von Chloroform auch in der Kälte leicht aufgenommen. Das für die Analyse benutzte Produkt war mit Tierkohle entfärbt und zuletzt aus Alkohol oder aus wasserhaltigem Essigester krystallisiert worden. Im ersteren Fall erhält man glänzende Blättchen, im zweiten schöne lange Nadeln. Das Aussehen dieser Krystallisationen habe ich seinerzeit bereits beschrieben. Durch einfaches Umkrystallisieren aus Alkohol läßt sich der Stoff nicht völlig von seinem Begleiter befreien und daher kam es, daß seinerzeit der Schmelzpunkt konstant, aber etwas niedriger gefunden wurde. Scharf ist derselbe in keinem Falle.

Die Analyse ergab:

Wasserbestimmung: Sowohl die aus Alkohol wie aus nicht getrocknetem Essigester erhaltenen Krystalle enthalten Krystallwasser. Die Bestimmung desselben geschah in einer Wasserstoffatmosphäre bei 105 bis 115°, da die Substanz das

¹ Monatshefte, 1905, p. 264.

Erhitzen an der Luft nicht verträgt. Selbst im Wasserstoffstrom färbt sich der Körper ein wenig gelblich.

0.3485 g Substanz verloren 0.0165 g an Gewicht. Daher $H_2O = 4.73\%$.

Elementaranalyse: Da die Substanz beim Trocknen bei 100° eine merkliche Zersetzung erfährt, wurde sie samt dem Krystallwasser analysiert. Sie wurde einige Tage an der Luft und dann ein paar Stunden im Exsikkator getrocknet, wobei sie nicht merklich an Gewicht abnimmt. Immerhin mag der Krystallwassergehalt die Ursache sein, daß keine völlig stimmenden Zahlen erhalten wurden.

1. 0.1883 g Substanz gaben 0.5558 g CO_2 und 0.1871 g H_2O , daher $C = 80.50\%$ und $H = 11.04\%$.
2. 0.1993 g Substanz lieferten 0.5863 g CO_2 und 0.1904 g H_2O , daher $C = 80.23\%$ und $H = 10.61\%$.

| | Gefunden im Mittel | Berechnet für $C_{26}H_{40}O + H_2O$ | Berechnet für $C_{26}H_{44}O + H_2O$ |
|--------------|-----------------------|---|---|
| $H_2O \dots$ | 4.730/0 | 4.660/0 | 4.610/0 |
| C. | 80.37 | 80.82 | 80.00 |
| H. | 10.82 | 10.87 | 11.79 |

Drehungsvermögen: Dasselbe wurde bei 18 bis 20° in Chloroformlösung im 2 dm-Rohr mittels eines Schmidt-Haenschen Polarisationsapparates mit Doppelkeilkompensation bestimmt.

1. 0.3500 g in 25 cm^3 Chloroform drehen 9.9° Ventzke nach links. Daher $[\alpha] = -122.5^\circ$.
 2. 0.2595 g in 25 cm^3 Chloroform drehen -7.2° V. $[\alpha] = -120.2^\circ$.
 3. 0.6244 g in 25 cm^3 Chloroform drehen -17.4° V. $[\alpha] = -120.8^\circ$.
 4. 0.7489 g in 25 cm^3 Chloroform drehen -21.0° V. $[\alpha] = -121.5^\circ$.
- Im Mittel: $[\alpha] = -121.2^\circ$.

Da die erhaltenen Analysenzahlen einen sicheren Schluß auf die Formel des Körpers nicht zulassen, habe ich das Azetylprodukt, welches ich seinerzeit gewonnen und analysiert hatte, nochmals dargestellt. Die Ausbeute ist gut und das Produkt ist, wenn man von reiner Muttersubstanz ausgeht, nach dem Absaugen und Waschen mit kaltem Alkohol sofort

analysenrein. Wenn nötig, kann man aus Alkohol-Benzolgemisch umkrystallisieren. Die Substanz schmilzt bei 169 bis 170° unter schwacher Gelbfärbung. Den damals angegebenen Eigenschaften wäre noch hinzuzufügen, daß die Krystalle sechsseitige Blättchen darstellen, welche denen des Ausgangsproduktes auch in den Winkelwerten sehr ähnlich sind. Aus Essigester und Aceton erhält man ähnliche, perlmutterglänzende Krystalle wie aus Alkohol-Benzolmischung, das letztere Lösungsmittel, allein angewandt, liefert weniger gut ausgebildete Krystalle.

Das Azetylprodukt wie seine Muttersubstanz färben sich nach längerem Stehen im Lichte gelblich.

Analyse: 1. 0·1881 g Substanz lieferten 0·5631 g CO₂ und 0·1761 g H, also C = 81·64% und H = 10·40%.

2. 0·1981 g Substanz ergaben 0·5937 g CO₂ und 0·1854 g H, daher C = 81·73% und H = 10·39%.

Die erhaltenen Zahlen stimmen mit den seinerzeit gefundenen (C = 81·69% und H = 10·51%) gut überein.

| | Gefunden im Mittel | Berechnet für C ₂₈ H ₄₂ O ₂ | Berechnet für C ₂₈ H ₄₆ O ₂ |
|--------|-----------------------|---|---|
| C..... | 81·69% | 81·95% | 81·16% |
| H..... | 10·43 | 10·24 | 11·11 |

Drehungsvermögen: 0·4709 g, in 25 cm³ Chloroform gelöst, drehen im 2 dm-Rohr (im selben Apparat wie oben) 9·7° Ventzke nach links (bei 18° C.). Daher [α] = -89·2°.

Die Analysenzahlen des Azetylproduktes weisen wohl mit großer Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß demselben die Formel C₂₈H₄₂O₂ und daher dem Ausgangsprodukt die Formel C₂₆H₄₀O + H₂O, welche nach Tanret diejenige des Ergosterins¹ ist, zukommt. Auch der Schmelzpunkt und das Drehungsvermögen des Azetylproduktes stimmen mit den von Tanret² und Ottolenghi³ angegebenen Werten ziemlich über-

¹ Freilich gibt Ottolenghi die Formel des Ergosterins zu C₂₄H₄₀O + H₂O oder C₂₅H₄₂O + H₂O an, welche mit meinen Analysenzahlen nicht gut übereinstimmt.

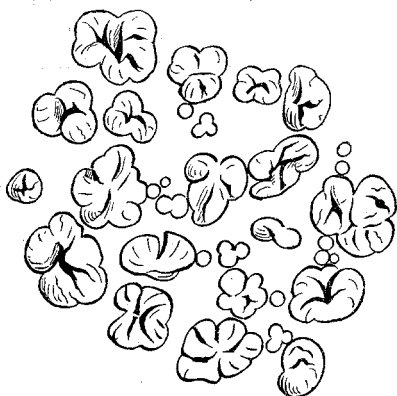
² Chem. Zentralblatt, 1889, I, p. 421

³ Chem. Zentralblatt, 1906, I, p. 541.

ein (Tanret gibt an: Fp. 169 bis 176°, $[\alpha] = -80^\circ$, Ottolenghi: Fp. 165°, $[\alpha] = -89^\circ$). Trotzdem erscheint mir die seinerzeit angenommene Identität des Ergosterins und des ihm ähnlichen Körpers aus dem Fliegenpilz fraglich, und zwar mit Rücksicht auf die etwas abweichenden Werte des Schmelzpunktes und des optischen Drehungsvermögens. Um eine sichere Entscheidung zu treffen, wird die neuerliche Herstellung und unmittelbare Vergleichung der fraglichen Stoffe

nötig sein. Ich komme übrigens auf diesen Gegenstand unten noch einmal zurück.

Die in Alkohol leichter löslichen Anteile der Partie *A* werden mit der Partie *B* vereinigt und das oben erwähnte Verfahren mit entsprechend kleineren Mengen Lösungsmittel fortgesetzt, wobei man noch eine Portion des oben beschriebenen Körpers erhält. Das übrige wird mit der Partie *C* vereinigt, neuerlich



Vergrößerung etwa 400fach.

dem Krystallisationsverfahren unterworfen und sodann, nach Beseitigung der in 55° warmem Alkohol schwer löslichen Zwischenfraktionen, so lange mit kaltem Äther extrahiert, bis der Rückstand die Liebermann'sche Reaktion (mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure) nicht mehr zeigt. Schließlich wird der Körper mehrmals aus siedendem Essigester umkrystallisiert, aus welchem er sich beim Erkalten als sandiges Pulver ausscheidet. Diese Ausscheidung ist nicht eigentlich krystallisiert, sondern erscheint (in reinstem Zustand) in Form kugelig, oft miteinander verwachsener Sphärokrystalle, wie sie in vorstehender Abbildung dargestellt sind. Aus anderen Lösungsmitteln scheidet sich der Stoff meist als durchscheinende Gallerte aus, so z. B. aus Benzol oder Petroläther. Er ist in Wasser unlöslich, in den gebräuchlichen organischen Solventien, wie Alkohol, Äther, Benzol, Aceton, Holzgeist, Eisessig etc., in der Hitze ziemlich gut, in der Kälte dagegen sehr schwer

löslich. Petroläther löst auch in der Siedehitze nur wenig. Da der Körper in kaltem Chloroform nur sehr wenig löslich ist, so läßt sich mit Hilfe dieses Lösungsmittels eine Trennung von dem ergosterinartigen Körper durchführen, welche vielleicht dem von mir angewandten Trennungsverfahren vorzuziehen ist.

Der Stoff sintert bei 127° , schmilzt bei 133° , bräunt sich hierauf unter Entwicklung weißer, fettartig riechender Dämpfe und verkohlt schließlich. Er enthält etwas Stickstoff, keinen Schwefel und Phosphor, hingegen sonderbarerweise eine Spur Asche. In heißem Wasser quillt er nicht auf, beim Kochen mit 2prozentiger Schwefelsäure findet Zersetzung und schwache Quellung statt; nach dem Filtrieren reduziert die Flüssigkeit deutlich Fehling'sche Lösung.

Analyse: 1. 0.2172 g Substanz gaben $0.2345\text{ g H}_2\text{O}$ und 0.5120 g CO_2 , daher $\text{C} = 64.27\%$ und $\text{H} = 11.99\%$.
 2. 0.2260 g Substanz lieferten $0.2402\text{ g H}_2\text{O}$ und 0.5389 g CO_2 , somit $\text{C} = 65.02\%$ und $\text{H} = 11.81\%$.
 3. 0.5100 g Substanz gaben 10.8 cm^3 feuchten Stickstoff bei 725 mm Druck und 22° C . Daher $\text{N} = 2.30\%$.

Das Drehungsvermögen konnte nicht bestimmt werden, da der Stoff in allen bisher versuchten Lösungsmitteln in der Kälte zu wenig löslich ist.

Aus dem Mitgeteilten geht hervor, daß der fragliche Körper augenscheinlich der Gruppe der Zerebrine angehört. Die analytischen Daten gestatten vorläufig nicht die Aufstellung einer empirischen Formel; bemerkenswert ist der hohe Wasserstoffgehalt des Körpers, welcher übrigens kein Krystallwasser enthält. Einen recht ähnlichen Stoff haben Bamberger und Landsiedl¹ aus *Lycoperdon Bovista* isoliert, mein Körper unterscheidet sich von demselben hauptsächlich durch den niedrigeren Schmelzpunkt. Das vorliegende Zerebrin (Zerebrosid) dürfte neben dem Prozeß der Fettspaltung, der, wie ich seinerzeit gezeigt habe, im Fliegenpilz vor sich geht, wenn derselbe altert oder getrocknet wird, aus dem Protagon gebildet werden. Es findet sich, wie man mikroskopisch feststellen kann, in der Fällung, welche man aus dem Rohfett bei der

¹ Monatshefte für Chemie, 1905, p. 1109.

Behandlung mit heißem Petroläther erhält, in Form kleiner gelb-brauner Kügelchen, welche an den relativ großen Krystallen des ergosterinartigen Körpers haften, und ist somit präformiert im Pilz vorhanden.

Nachdem nun der Nachweis erbracht ist, daß Zerebroside in zwei, systematisch einander ziemlich fernstehenden Pilzarten vorkommen, ist die Annahme, daß derartige Stoffe in den Pilzen in weiterer Verbreitung anzutreffen sein werden, wohl zulässig; es ist nicht unwahrscheinlich, daß manche der aus verschiedenen Pilzspezies isolierten ergosterinartigen Körper mit mehr oder weniger erheblichen Mengen der bisher nicht beachteten Zerebrine verunreinigt waren und daß namentlich die differierenden Angaben über Schmelzpunkt und optisches Drehungsvermögen auf diesen Umstand zurückzuführen sind. Von diesem Gesichtspunkt aus ist zu hoffen, daß die bisherige Unklarheit in der Ergosterin-Gruppe¹ wenigstens eine teilweise Aufhellung erfahren wird. Diesbezügliche Untersuchungen sind bereits im Gange.

II.

Die Angabe Scholl's,² daß man aus dem Steinpilz (*Boletus edulis*) auf verhältnismäßig einfache Weise Chitin erhalten kann, einerseits und meine abweichenden Beobachtungen am Maisbrand³ andererseits veranlaßten mich, das Verfahren Scholl's am Fliegenpilz nachzuprüfen.

Im Ausgangsmaterial (getrockneten und fein geschnittenen Fliegenpilzen, welche etwa ein Monat vorher gesammelt worden waren) wurde zunächst der Stickstoff- und Aschengehalt bestimmt.

Der Feuchtigkeitsgehalt betrug 14·30⁰/₁₀. Vom getrockneten Material ergaben 5·9435 g Substanz 0·4035 g Asche. 1·6648 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 8·75 cm³ H₂SO₄ vom Titre 1 cm³ H₂SO₄ = 0·00688 g N.

Nun wurde das Material einige Male mit kaltem Wasser (je 24 Stunden) extrahiert und hierauf mehrfach mit heißem

¹ Vgl. Zellner, Chemie der höheren Pilze, 1907, p. 27 ff.

² Monatshefte für Chemie, 1908, p. 1023.

³ Ebenda, 1910, p. 441.

Wasser ausgezogen, bis keine erheblichen Substanzmengen mehr in Lösung gehen. Ein Teil der so vorbehandelten Masse wurde getrocknet und analysiert.

2·5300 g Substanz gaben 0·032 g Asche. 1·8375 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 8·05 cm³ Schwefelsäure von obigem Titre.

Das übrige wurde nun dem Scholl'schen Verfahren, d. h. dem abwechselnden Auskochen mit 10prozentiger Lauge und Wasser unterworfen. Die Prozedur wurde fünfmal wiederholt. Es tritt dabei keine Dunkelfärbung des unlöslichen Anteils ein, wie ich sie bei holz- und lederartigen Polyporeen und beim Maisbrand beobachtet hatte, vielmehr bildet das Produkt eine gelbliche voluminöse Masse, während erhebliche Mengen braun gefärbter Substanzen in Lösung gehen. Das schließlich sorgfältig ausgewaschene Material schrumpft beim Trocknen sehr zusammen und bildet gelbgraue, harte Krümeln. Die von Scholl zuletzt noch angewandte Bleichung des Materials habe ich nicht durchgeführt, da sie mir für den Zweck der Vergleichung nicht wesentlich erschien. Das oben erwähnte Produkt wurde analysiert.

1·5010 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 12·0 cm³ obiger Schwefelsäure. 1·009 g Substanz ergaben 0·0227 g Asche.

Die analytischen Daten seien zum Zwecke der Übersicht und der Vergleichung mit den am Maisbrand erhaltenen Zahlen hier zusammengestellt:

| | Asche | Stickstoff | Stickstoff, auf aschenfreie Substanz berechnet |
|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--|
| Natives Material | 6·78 ⁰ / ₀ | 3·61 ⁰ / ₀ | 3·87 ⁰ / ₀ |
| Mit Wasser erschöpftes Material .. | 1·26 | 3·00 | 3·03 |
| Nach Scholl behandeltes Material | 2·25 | 5·50 | 5·62 |

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß durch die Behandlung mit Wasser der Stickstoffgehalt (geradeso wie beim Maisbrand) bedeutend herabgedrückt wird, was in der Extraktion von Eiweißkörpern, Basen etc. begründet ist. Während die

nun folgende Laugenbehandlung beim Maisbrand kein merkliches Ansteigen des Stickstoffgehaltes zur Folge hatte, zeigt sich hier genau so, wie es Scholl für *Boletus edulis* angibt, eine bedeutende Erhöhung des Prozentgehaltes an Stickstoff. Es ist also klar, daß die Scholl'sche Methode bei fleischigen Pilzen anwendbar ist, um reines Chitin zu erhalten, nicht aber bei holzigen oder lederigen Pilzmembranen. Diese Verschiedenheit der Pilzzellwand zeigt sich, wie bereits erwähnt, äußerlich daran, daß die holz- und lederartigen Pilze, wie *Polyporus igniarius*, *fomentarius*, Maisbrand etc., nach dem Scholl'schen Verfahren ein dunkelbraun bis schwarz gefärbtes Produkt liefern, während bei den fleischigen Pilzen (auch ohne Bleichung) eine blaßgelbliche, nach dem Trocknen hornähnlich gefärbte Masse erhalten wird.

Das zuletzt erwähnte Produkt mit 5·50% Stickstoffgehalt wurde auf dem Wasserbad einige Zeit mit rauchender Salzsäure behandelt, wobei unter Braunfärbung das meiste in Lösung geht. Nach dem Filtrieren und Einengen der Lösung scheidet sich beim Erkalten das salzsaure Glukosamin in Krystallen aus, welche nach zweimaligem Umkrystallisieren aus schwach salzsaurem Wasser rein erhalten werden.

Chlorbestimmung: 0·4683 g Substanz gaben 0·3080 g AgCl, daher $\text{Cl} = 16·27\%$, berechnet $16·47\%$.

Die Ausbeute an dem oben erwähnten chitinreichen Produkt ist gering (zirka 4% des lufttrockenen Ausgangsmaterials). Es zeigt also, wie zu erwarten war, die Membransubstanz des Fliegenpilzes mit der des Steinpilzes die weitestgehende Ähnlichkeit.

Was durch die Laugenbehandlung in Lösung gebracht wird, läßt sich größtenteils durch Neutralisation mit Essigsäure und Zusatz von Alkohol ausfällen, wenn die Lösung genügend konzentriert war. Die Fällung bildet graugelbe Flocken, welche auf dem Filter zu einer zähfädigen, fast schwarzen Masse sich vereinigen. Dieselbe wird mit Alkohol gut ausgewaschen und bei mäßiger Temperatur getrocknet. Das so erhaltene Produkt quillt in heißem Wasser, löst sich aber darin nur sehr wenig auf, leicht ist es nur in heißer Lauge löslich. Diese alkalische

Lösung gibt mit Fehling'scher Lösung keine Fällung und fast keine Reduktion. Wird die Substanz hingegen einige Zeit mit verdünnter Salzsäure gekocht, so erhält man nach dem Filtrieren und Neutralisieren mit Fehling'scher Lösung eine starke Kupferoxydulausscheidung. Es sind also jedenfalls kohlehydratartige Stoffe vorhanden. Als einfacher Verseifungsprozeß esterartiger Verbindungen von Chitin und Kohlehydraten ist die Laugenbehandlung trotzdem nicht anzusehen. Obwohl nämlich nach der Extraktion mit Wasser nur geringe Mengen Eiweißkörper durch die Lauge in Lösung gebracht werden,¹ enthalten die alkalischen Extrakte doch erhebliche Mengen Stickstoff und die Ausbeute an Chitin ist weit geringer, als man nach dem Stickstoffgehalt des mit Wasser erschöpften Materials erwarten sollte. Ich möchte diesbezüglich auf das an anderer Stelle Gesagte² verweisen.

¹ Als Reagens dienen Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure. Man vgl. auch Hofmann, Über die chemischen Bestandteile einiger Pilze, Dissertation, Zürich 1901, und Winterstein, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, 26, p. 438.

² Monatshefte für Chemie, 1910, p. 454.