

Über den Duftstoff zweier Rißpilzarten (Agaricales, Basidiomycetes)

On the Odorous Substance of Two *Inocybe* Species (Agaricales, Basidiomycetes)

Johannes A. Schmitt

Fachbereich 15.2, Biochemie, der Universität des Saarlandes, Saarbrücken

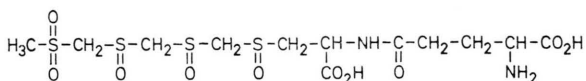
Z. Naturforsch. **33c**, 817–819 (1978); eingegangen am 22. März/6. September, 1978

Methyl-cinnamate, *Inocybe*, Higher Fungi

The Odorous Substance of the two *Inocybe* species *I. corydalina* Quél. and *I. pyriodora* (Pers. ex Fr.) Quél. (Agarics) had been isolated and identified by analysis and spectroscopy as methylcinnamate, thus providing the first demonstration of this compound in higher fungi living on soil.

Einleitung

In den letzten Jahren hat das Interesse an niedermolekularen Naturstoffen zugenommen und besonders aus Pilzen wurden eine Reihe interessanter Verbindungen isoliert [Zusammenstellungen in Ref. 1–3]. Den flüchtigen Komponenten wurde besondere Aufmerksamkeit geschenkt, da eßbare Pilze wegen ihrer vorzüglichen Aromen in immer höherem Maße in der Nahrungsmittelindustrie verwendet werden. Bisher sind nur wenige der interessierenden Verbindungen bekannt, z.B. die aus dem japanischen Shiitake-Pilz [*Lentinus edodes* (Berk.) Singer] von Yasumoto [4] isolierte Lenthinsäure, der Vorläufer von Lenthionin und verwandten, schwefelhaltigen Aromastoffen [5] dieses Speisepilzes. Erst vor kurzem konnten Höfle *et al.* [6] die chemische Struktur der Lenthinsäure endgültig festlegen:



Im Rahmen eigener Untersuchungen flüchtiger Pilzinhaltsstoffe konnte z.B. als Duftstoff des Blätterpilzes *Rhodophyllus icterinus* (Fr.) Quél. das 1.3-Dimethoxybenzol erstmals in der lebenden Natur nachgewiesen werden [7]. Die weitere Erforschung von Pilzduftstoffen scheint also auch im Hinblick auf biochemisch interessante Komponenten bei nicht eßbaren Pilzarten wünschenswert.

Inocybe corydalina Quél. (Grünscheiteliger Rißpilz) und *I. pyriodora* (Pers. ex Fr.) Quél. (Birnen-Rißpilz), zwei in Mitteleuropa verbreitete, jedoch nicht häufige, giftige Rißpilzarten [8], fallen durch

einen intensiven, aromatischen Duft auf, der in der Pilzliteratur als Obst-, Jasmin-, Lerchensporn- bzw. Birnengeruch charakterisiert wird und der beide Arten von den zahlreichen weiteren, spermatisch riechenden Spezies der Gattung hervorhebt. Da bisher in der Literatur keine Hinweise über die chemische Natur des „Birnengeruches“ von *I. corydalina* und *I. pyriodora* zu finden waren und beide Arten 1977 im Saarland stellenweise in größerer Fruchtkörperzahl auftraten, wurde die Strukturaufklärung der Duftstoffe in Angriff genommen, wobei beide Spezies getrennt bearbeitet wurden.

Ergebnisse und Diskussion

Aus dem Methanolextrakt der frischen Pilzfrucht-körper beider *Inocybe*-Arten wurden die Geruch-stoffe in Chloroform überführt und durch wiederholte präparative DC an Kieselgel mit Benzol als dünn-schichtchromatographisch einheitliche und gleichartige Substanzen erhalten. Beide hellgelbe, wachsartige Isolate zeigten den gleichen Schmelzpunkt bei 34 °C. Die Massenspektren der gaschromatographisch einheitlichen Substanzen zeigten in beiden Fällen den Molekülpeak bei $m/e = 162$, die Elementaranalysen lieferten beide Male die Summenformel $C_{10}H_{10}O_2$. Aus den 1H -NMR-Spektren ergab sich für beide Duftstoffe die gleiche Struktur: Zimtsäuremethylester. Authentischer Zimtsäuremethylester stimmte in allen überprüften Eigenschaften (Geruch, Schmelzpunkt, 1H -NMR- und Massenspektrum, Verhalten bei der DC und GC) mit dem aus den beiden Rißpilzarten isolierten Duftstoffen überein.

Zimtsäuremethylester ist aus dem Pflanzenreich als Bestandteil von Ölen und Harzen schon lange

Sonderdruckanforderungen an Dr. J. A. Schmitt, Fachbereich
15.2, Biochemie, der Universität des Saarlandes, D-6600
Saarbrücken 11.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

bekannt [1, 8–10]. Im Pilzreich wurde dieser Ester bisher ausschließlich in dem holzbewohnenden, saprophytisch lebenden Ständerpilz *Lentinus lepideus* (Fr.) Fr. (Anis-Sägeblättling) gefunden [2, 9, 11]. Außerdem sind in diesem Pilz noch ähnliche, substituierte Aromaten, wie Anissäuremethylester, *p*-Methoxyzimtsäuremethylester und *p*-Cumarinsäuremethylester enthalten [11–15]. Zimtsäure bzw. Zimtaldehyd als mögliche Vorstufen des Zimtsäuremethylesters wurden bisher nur in einer amerikanischen, ebenfalls holzbewohnenden Schichtpilz-Spezies, *Stereum subpileatum* Berk. et Curt., entdeckt [16]. Keine der aufgeführten Verbindungen konnte in den beiden hier untersuchten, bodenbewohnenden Rißpilzarten neben dem Zimtsäuremethylester aufgefunden werden. Das Auftreten dieses Esters in den Rißpilzen ist insofern interessant, weil die wohl aus Phenylalanin biosynthetisch primär entstehende Zimtsäure [3, 17] nicht zur *p*-Cumarinsäure bzw. Kaffeesäure hydroxyliert wird, bevor mittels aktivem Methionin die Carboxylfunktion verestert wird. Bei beiden Rißpilzarten scheinen also spezielle, Phenylalanin-hydroxylierende Systeme zu fehlen bzw. blockiert zu sein, obwohl diese sonst in Pilzen weit verbreitet und aktiv sind. Taxonomisch bemerkenswert ist, daß beide *Inocybe*-Arten der gleichen Sektion *Lactiferae* Heim angehören [8] und daß in der Gattung keine weiteren Arten mit dem charakteristischen Zimtsäuremethylester-Duft bekannt sind. Überraschend sind auch die relativ großen Mengen, in denen der Ester in den Rißpilzarten vorkommt: 0,75 mg/g Pilztrockenmasse, entsprechend 75 mg/kg Frischpilz im Falle von *I. pyriodora* bzw. 0,68 mg/g Pilztrockenmasse, entsprechend 68 mg/kg Frischpilz bei *I. corydalina*.

Experimentelles

Ausgangsmaterialien: 720 g frische Fruchtkörper von *I. corydalina* (JAS 4401) bzw. 660 g von *I. pyriodora* (JAS 4402) wurden im gleichen Laubwaldgebiet am 3. 9. 1977 bei Oberlimberg (Saargau) gesammelt. Beschreibungen und Belege sind unter den in Klammern stehenden Nummern im Herbar J. A. Schmitt, Blieskastel-Aßweiler, hinterlegt.

Aufarbeitung: Die Frischpilze wurden, nach Arten getrennt, nach dem schon früher beschriebenen Verfahren [7] extrahiert und die rohen

Duftstoffe in Chloroformlösung übergeführt. Bei deren präparativer DC an Kieselgel GF₂₅₄ (Merck, Darmstadt; 0,5 mm, Fließmittel Benzol) zeigten sich bei beiden Pilzarten im Chromatogramm drei fluoreszenzlöschende Zonen bei $hR_f = 0, 7$ und 42 , wobei letztere die Substanz mit dem typischen Birnenduft enthielt, die aus den abgehobenen Sorbenzonen mit Aceton quantitativ eluiert wurde. Die nach Rechromatographie im gleichen DC-System, Elution mittels Aceton und Abzug des Lösungsmittels zurückbleibende, gelbliche Substanz schmolz bei 34°C . Ausbeuten: 50 mg bei *I. pyriodora*, 49 mg bei *I. corydalina*.

Elementaranalysen: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$ (162,1):
Ber. C 74,09, H 6,22;

Duftstoff von *I. pyriodora*:
Gef. C 73,82, H 6,32;

Duftstoff von *I. corydalina*:
Gef. C 73,96, H 6,34

GC: Gerät Hewlett Packard 7620 A, Säule 6 ft, Chromosorb WAW DMCS 60–80 mesh, Temp. $150–210^\circ\text{C}$, Trägergas 18 ml/min Helium; authentischer Zimtsäuremethylester und die beiden isolierten Pilzduftstoffe zeigten gleiche Retentionszeiten und im Mischchromatogramm aufeinanderfallende Peaks.

Kopplung mit MS: Gerät Varian CH 7, Ionenquelle 270°C , Einlaßtemperatur 240°C , Kathodenstrom $100\mu\text{A}$; ebenso identisch wie beim GC-Verhalten erwiesen sich die drei genannten Substanzen bezüglich ihrer Massenspektren. Die herausragenden Massenpeaks mit Intensitätsangabe und Fraktionierung waren: m/e (% rel. Intensität, Fraktionierung) = 162 (42, M^+), 131 (100, $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$), 103 (77, $\text{M}^+ - \text{OCH}_3, -\text{CO}$), 77 (52, $\text{M}^+ - \text{OCH}_3, -\text{CO}, -\text{C}_2\text{H}_2$).

$^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Gerät Varian V 6040 (60 MHz); die Spektren von Zimtsäuremethylester und den beiden *Inocybe*-Duftstoffen in CDCl_3 waren qualitativ und quantitativ identisch, die charakteristischen Protonensignale lagen bei $\delta = 3,80$ (s; 3 OCH_3 -Protonen), 6,33 u. 6,60 (s; 2 Methin-Protonen), 7,30–7,88 (5 aromatische, koppelnde Protonen).

Folgenden Herren sei für Analysen bzw. Spektren gedankt: H. Götz (Elementaranalysen), J. Müller ($^1\text{H-NMR}$ -Spektren) und Dr. A. Becker (Massenspektren).

- [1] W. Karrer, E. Cherbuliez u. C. H. Eugster, Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, Ergänzungsband 1, Birkhäuser Verlag, Basel 1977.
- [2] S. Shibata, S. Natori u. S. Udagawa (Hrsg.), List of fungal products, University of Tokyo Press, Tokyo 1964.
- [3] J. E. Smith u. D. R. Berry (Hrsg.), The filamentous fungi, vol. II, Biosynthesis and Metabolism, Verlag Eduard Arnold Ltd., London 1976.
- [4] K. Yasumoto, K. Iwami u. H. Mitsuda, Agr. Biol. Chem. **35**, 2059 (1971).
- [5] K. Morita u. S. Kobayashi, Chem. Pharm. Bull. **15**, 988 (1967).
- [6] G. Höfle, R. Gmelin, H.-H. Luxa, M. N'Galamulume-Treves u. S. I. Hatanaka, Tetrahedron Letters **36**, 3129 (1976).
- [7] J. A. Schmitt u. W. Klose, Liebigs Ann. Chem. **1973**, 544.
- [8] M. Moser, Die Röhrlinge und Blätterpilze, in W. Gams (Hrsg.), Kleine Kryptogamenflora, Bd. II b/2, Basidiomyceten II. Teil, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1967.
- [9] W. Karrer, Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, Birkhäuser Verlag, Basel 1958.
- [10] H. M. Rauen (Hrsg.), Biochemisches Taschenbuch, Teil I, Springer-Verlag, Berlin 1964.
- [11] J. E. Birkinshaw u. W. P. K. Findlay, Biochem. J. **34**, 82 (1940).
- [12] F. F. Nord u. J. C. Vitucci, Arch. Biochem. Biophys. **14**, 243 (1947).
- [13] G. Eberhardt u. F. F. Nord, Arch. Biochem. Biophys. **55**, 578 (1955).
- [14] G. Eberhardt u. F. F. Nord, J. Amer. Chem. Soc. **78**, 2832 (1956).
- [15] H. Shimazono u. F. F. Nord, Arch. Biochem. Biophys. **78**, 263 (1958).
- [16] J. H. Birkinshaw, P. Chaplen u. W. P. K. Findlay, Biochem. J. **66**, 188 (1957).
- [17] N. R. Towers u. D. E. Wright, New Zealand J. Agric. Res. **12**, 275 (1969).