

Muscarin

Dr. Walter Herrmann

Pilzkenner stellen mitunter die Frage, warum sich Chemiker und Pharmakologen nicht öfters mit der Erforschung von Pilzgiftstoffen befassen. Der Nichtchemiker kann sich kaum einen Begriff davon machen, welche Mühe und welchen Zeitaufwand es kostet, einen komplizierten Naturstoff, der meist in sehr kleinen Mengen vorkommt, zuerst rein zu gewinnen, und wenn dies gelungen ist, seinen Molekülaufbau aufzuklären. Bei der Untersuchung von Pilzhaltstoffen kommt noch erschwerend hinzu, daß der Forscher von den Launen der Natur abhängig ist. Muß er doch darauf warten, daß seine Untersuchungsobjekte, die Fruchtkörper der Pilze, von selbst heranwachsen. Ein Heranzüchten des Untersuchungsmaterials, wie das oft bei anderen Pflanzen und Tieren geschieht, ist ja hier nur in den seltensten Fällen möglich. Der folgende Bericht soll nun dazu beitragen, Verständnis für diese mühevollen Arbeit des Forschers zu erwecken.

In chemischen Fachzeitschriften erschienen kürzlich einige Abhandlungen, in denen Wissenschaftler über ihre Arbeiten zur Aufklärung des Aufbaues des Muscarins, des giftigen Alkaloids des Fliegenpilzes, berichten. Seit bald hundert Jahren sind Pharmakologen und Chemiker darum bemüht, bis es erst in jüngster Zeit gelang, durch Einsatz der modernsten Methoden der einschlägigen Wissenschaften zu einem vollen Erfolg zu kommen.

Prof. C. H. Eugster vom Chemischen Institut der Universität Zürich berichtet über seine Forschungen etwa folgendes: 124 kg der dort nicht gerade häufigen Fliegenpilze wurden 1953 in der Nord- und Ostschweiz gesammelt. Sie wurden frisch sofort unter Alkohol mittels eines Turmix feinst zerhackt. Die abfiltrierten alkoholischen Auszüge dampften die Forscher dann schonend im Vakuum zu einem Sirup ein, wobei sich ein in Alkohol leicht löslicher und ein darin schwerlöslicher Teil ergab. Erst durch Versuche an isolierten Froschherzen konnte man feststellen, daß sich das Muscarin im leicht löslichen Anteil befand. Dieser wurde daher eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und die Fettstoffe durch Ausziehen mit Äther entfernt. Nun mußten die Forscher mit sogenannter Reineckesäure, einer Komplexsäure des Chroms mit Ammoniak und Rhodan, den Giftstoff als schwer lösliches Salz fällen, wobei immer noch eine Reihe anderer Stoffe mitging, und dann mit Aceton extrahieren. Die Reineckate wurden in Chloride umgewandelt. Nun waren kaum 29 Gramm Rohchloride übriggeblieben, was einer Anreicherung im Verhältnis 1:4300 entspricht. Während aller dieser Reinigungsvorgänge mußte der Gehalt an Muscarin jedesmal am isolierten Froschherzen getestet werden.

Die noch immer mit sehr viel Fremdstoffen vermischten Rohchloride wurden

nun mittels papierchromatographischer Verfahren weiter gereinigt. Diese Methoden sind erst seit nicht viel mehr als einem Jahrzehnt zur heutigen Leistungsfähigkeit entwickelt worden. Man bringt hierbei das zu trennende Stoffgemisch auf Filtrierpapier auf und läßt ein Lösungsmittelgemisch durch das Papier wandern. Mit diesem Gemisch wandern nun die zu trennenden Stoffe ungleich schnell im Papier weiter und lassen sich nach einiger Zeit in verschiedener Entfernung vom Ausgangspunkt getrennt nachweisen oder sie erreichen zu verschiedenen Zeiten das Ende des Papierstreifens und können so einzeln aufgefangen werden. Die günstigsten Lösungsmittelgemische mußten in diesem Fall erst gefunden und ausprobiert werden. Um das Verfahren wirksamer zu machen, ersetzte man die Papierstreifen durch lange, mit Zellulosepulver gefüllte Röhren, an deren unterem Ende man in bestimmten Zeitintervallen 100 und mehr einzelne Fraktionen auffing. In einigen davon fand sich das Muscarin. Nach zweimaliger Anwendung des Verfahrens hatten die Forscher 1,33 Gramm Muscarinkonzentrat in den Händen. Das Gift wurde nun mit Goldchlorwasserstoffsäure ausgefällt, abfiltriert, das gefällte Salz zerlegt, die erhaltene Lösung mit Tierkohle gereinigt, im Vakuum eingedampft und das unreine Produkt aus einem Isopropylalkohol-Acetongemisch umkristallisiert. So erhielten *Eugster* und seine Mitarbeiter schließlich 0,25 Gramm reines kristallisiertes Muscarinchlorid, was einer Anreicherung auf das 48000fache entspricht.

Diese geschilderte Reindarstellung ist vor allem deshalb so schwierig und umständlich, weil, wie schon früher andere Forscher festgestellt hatten und wie es sich auch bei dieser Arbeit ergab, Fliegenpilze sehr wenig dieses Giftstoffes enthalten. Der Gehalt daran beträgt, verschieden nach Witterung, Standort und anderen äußeren Bedingungen nur 0,0003 bis höchstens 0,0016%, bezogen auf Pilzfrischgewicht. Später erst fanden *Eugster* und Mitarbeiter im Ziegelroten Rißpilz, *Inocybe patouillardi*, eine viel ergiebigere Muscarinquelle, die etwa die 120fache Menge des Giftes lieferte.

Nun stand vor den Forschern die nicht weniger schwierige Aufgabe, diese winzige Menge Muscarin zu analysieren. Das macht der organische Chemiker im allgemeinen so, daß er den Stoff mit Hilfe verschiedener Reagenzien in einfachere bekannte Stoffe aufzuspalten trachtet. Diese kann er dann meist leicht identifizieren und aus den Spaltprodukten auf den Bau des Moleküls des untersuchten Stoffes zurückschließen. Dazu kommt noch eine Reihe anderer Reaktionen, mit denen bestimmte charakteristische Gruppen im Molekül nachgewiesen werden können. Als endgültigen Beweis der Formel versucht der Organiker schließlich aus den gefundenen einfachen Stoffen das Molekül wieder aufzubauen. Glaubt er, daß das gelungen ist — was oft nicht der Fall ist — dann muß er feststellen, ob der synthetisierte Stoff dieselben physikalischen, chemischen und physiologischen Eigenschaften hat, wie der analysierte. Für diese Arbeiten standen nur 0,25 Gramm des zu untersuchenden Stoffes zur Verfügung. Da eine ganze Reihe von Reaktionen durchgeführt werden mußte, durften für jede einzelne höchstens einige Milligramm angewendet werden. Es mußten also die Verfahren der Mikro- und Ultramikroanalyse herangezogen werden, Methoden, die auch erst im letzten Jahrzehnt zur

jetzigen Vollkommenheit entwickelt wurden, und die teilweise hohe Anforderungen an die Geschicklichkeit der Ausführenden stellen.

Während die Analyse normalerweise mit Mengen von einigen Gramm bis einigen Zehntel Gramm und Flüssigkeitsvolumen bis etwa hundert Milliliter arbeitet, tut dies die Mikroanalyse mit Milligrammen und Millilitern. Solche Mengen abzuwägen, zu messen, zu destillieren und sublimieren, mit anderen Reagenzien umzusetzen, damit Schmelz- und Siedepunkte zu bestimmen, verlangt eine besondere Technik und eigene, sehr empfindliche Apparate. Noch schwieriger sind die Methoden und Geräte der Ultramikroanalyse zu handhaben, die unter Umständen mit Milliontel Gramm auskommt. Trotz dem Einsatz dieser Verfahren ging die gesamte Menge an verfügbarer Substanz auf, ohne daß nun alle Möglichkeiten zur sicheren Konstitutionsaufklärung hätten ausgenützt werden können. So konnte also zunächst nur eine wahrscheinliche Formel veröffentlicht werden.

Der schlechte Herbst 1955 brachte nicht die erhoffte Pilzernte. Die Zwischenzeit nutzten die Forscher zu Versuchen, den der vermeintlichen Muscarinformel entsprechenden Stoff synthetisch aufzubauen. Das gelang schließlich; als aber seine Eigenschaften geprüft wurden, zeigte es sich, daß es nicht die des Muscarins waren. Die Forscher mußten also zu ihrer Enttäuschung feststellen, daß die seinerzeit veröffentlichte Formel unrichtig war, hatten aber zunächst kein Muscarin mehr zur weiteren Untersuchung zur Verfügung. Erst 1956 konnten mit Hilfe eines großen Pharmazeutischen Werkes 1500 kg Fliegenpilze gesammelt und aufgearbeitet werden. Mit Hilfe des neugewonnenen Muscarins, von dem diesmal eine mehr als zehnmal so große Menge zur Verfügung stand, ging es an neue Versuche zur Konstitutionsaufklärung dieses Stoffes. Die größere Menge Muscarin ermöglichte bald ein sicheres Ergebnis. Die Formel wurde gemäß den neuen Erkenntnissen richtiggestellt und durch Synthese bestätigt.

Bevor jedoch diese korrigierenden Arbeiten veröffentlicht wurden, erschien in einer niederländischen chemischen Fachzeitschrift eine Arbeit des Utrechter Universitätsprofessors *Kögl* und seiner Mitarbeiter, die die richtige Formel ebenfalls, auf ganz anderen Wegen, gefunden hatten.

Kögl hatte schon mit zwei Mitarbeitern 1931 über diesen Giftstoff gearbeitet. Sie hatten damals aus 1250 kg Fliegenpilzen 0,135 Gramm einer am Froschherz getesteten aktiven Substanz isoliert und eine Formel für Muscarin aufgestellt. Der nach dieser Formel künstlich aufgebaute Stoff jedoch war vollständig unwirksam, konnte also kein Muscarin sein. So wurde im Jahre 1942 die seinerzeit veröffentlichte Formel von *Kögl* selbst wieder zurückgezogen. Nach längerer Unterbrechung begann nun *Prof. Kögl* mit einem neuen Forscherkollektiv sich mit Hilfe der inzwischen entwickelten modernen Verfahren von neuem mit dem Muscarin zu beschäftigen. Sie bedienten sich dabei eines anderen Aufbereitungsverfahrens, das allerdings nicht minder langwierig war und auch auf die Chromatographie zurückgriff. An Stelle des unbequemen Testes am lebenden Froschherzen hatten sie eine chemische Reaktion auf Muscarin gefunden, mit der sie die Reinigung in einfacher

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mykologisches Mitteilungsblatt](#)

Jahr/Year: 1957

Band/Volume: [1](#)

Autor(en)/Author(s): Herrmann Walter

Artikel/Article: [Muscarin 9-12](#)