

Nachweis von Psilocybin in *Inocybe aeruginascens* Babos*)

GISELA HAESELBARTH, HEINZ MICHAELIS, JOHANN SALNIKOW

Angeregt durch den ausführlichen Bericht über *Inocybe aeruginascens* Babos und die dadurch erzeugten Vergiftungen (DREWITZ, 1) sahen wir uns veranlaßt, die wirkenden Giftstoffe zu untersuchen. Bereits Anfang der sechziger Jahre fanden wir in Berlin (West) vereinzelt diesen Pilz, der aber damals noch nicht beschrieben und für uns daher unbestimmbar war. J. TRETTLER fand dann vor einigen Jahren den Pilz in größeren Mengen wieder. Inzwischen konnten wir ihn als *Inocybe aeruginascens* Babos identifizieren. Die Standorte in Berlin (West) entsprechen mit ihrer Begleitflora völlig den Angaben von KASPAR (2) und DREWITZ (1).

Bei den jetzt untersuchten Pilzen war keine blaugrüne Verfärbung festzustellen, sie war aber bei anderen Aufsammlungen am gleichen Fundort beobachtet und fotografisch festgehalten worden. Der nachfolgende Untersuchungsbericht bestätigt das Vorhandensein von Psilocybin in *Inocybe aeruginascens*, was bisher nur vermutet worden war. Es ist anzunehmen, daß sich ähnliche Substanzen auch in anderen Rißpilzen befinden. 9 frische Pilze (16,7 g) wurden im Mörser zerrieben und mit 18 ml Methanol aufgenommen. Das Homogenat wurde anschließend 3 Stunden im Ultraschallbad gehalten, um eine erschöpfende Extraktion zu gewährleisten, dann noch 10 min geschüttelt und bei 5 000 Umdrehungen/min 5–10 Minuten zentrifugiert. Der feste Rückstand wurde einige Male mit einem kleinen Volumen 70 %igem Methanol extrahiert, und die löslichen Überstände wurden vereinigt. Der gesamte Extrakt wurde in einer evaporierenden Speed Vac-Zentrifuge auf 1 ml eingeengt und im Gefrierschrank aufbewahrt. Niederschläge, die sich im Laufe der Zeit bildeten, wurden jeweils durch Zentrifugation entfernt. 1 µl des Konzentrats wurde, wie von MICHAELIS (3) beschrieben, der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel (DC-Alufolie Kieselgel 60 F 254, Merck, 6×7 cm) mit n-Butanol-Eisessig-Wasser-Isopropanol (8:2:5:3) als Laufmittel unterworfen. Das entwickelte Chromatogramm wurde mit einer 2 %igen p-Dimethylaminobenzaldehyd-Lösung in HCl_{conc} auf Indolderivate angefärbt. Als Vergleichslösungen dienten authentisches Psilocybin und Psilocin sowie Psilocybin-haltige Extrakte aus *Psilocybe semilanceata* (3). Weiterhin wurden Tryptamin, 5-Hydroxytryptamin, Tryptophan und 5-Hydroxytryptophan aufgetragen. Wie aus Fig. 1 ersichtlich, enthält der Extrakt aus *Inocybe aeruginascens* (Spur c) Substanzen, die im R_f-Wert und in der indolspezifischen Anfärbung authentischem Psilocybin wie auch dem in *Psilocybe semilanceata* vorläufig identifizierten Baeocystin entsprechen (Spur a und b). Psilocin ist in beiden Pilzen nur in Spuren enthalten. Bemerkenswert ist der hohe Tryptophangehalt von *Inocybe aeruginascens* wie durch Vergleich mit authentischem Material (Spur d) ersichtlich.

Um die Indolderivate weiterhin zu identifizieren und quantitativ zu bestimmen, wurde mit den Pilzextrakten eine Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) durchgeführt. HPLC-Systeme für Psilocybin und Psilocin werden beschrieben für die Verteilungschromatographie auf reversen Phasen mit oder ohne Ionenpaarbildung (4,5) für die Adsorptionschromatographie bzw. Ionenaustauscherchromatographie mit Partisil-5-Silicasäulen (6) sowie für reine Ionenaustauscherchromatographie auf Partisil SCX-10 (7).

Das gegenwärtig wohl schnellste und trennschärfste Verfahren mit Partisil-10 PAC-Säulen wird von SOTTOLANO und LURIE (8) beschrieben und stellt eine Kombination der verschiedenen Chromatographieverfahren dar. HPLC-Säulen (0,46×25 cm) wurden mit Partisil-10 PAC (Amino:Cyano 2:1, Fa. KNAUER, Berlin) unter Hochdruck gepackt und mit einem Laufmittel bestehend aus 5 % Acetonitril, 0,5 % Phosphorsäure und 94,5 % Wasser (mit 2 N NaOH auf pH 5,5–6 titriert) äquilibriert. Eluiert wurde mit einer Flußrate von 1 ml/min und die Extinktion bei 254 nm gemessen. Die HPLC-Trennungen wurden auf einem WATERS-Gerät ausgerüstet mit einer automatischen Probenaufgabe durchgeführt.

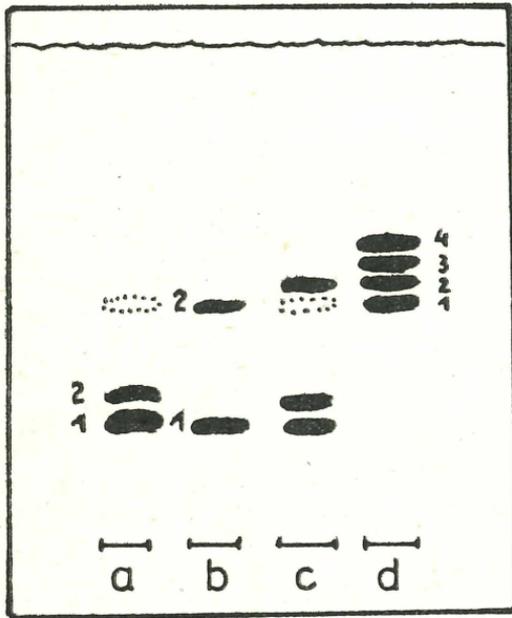
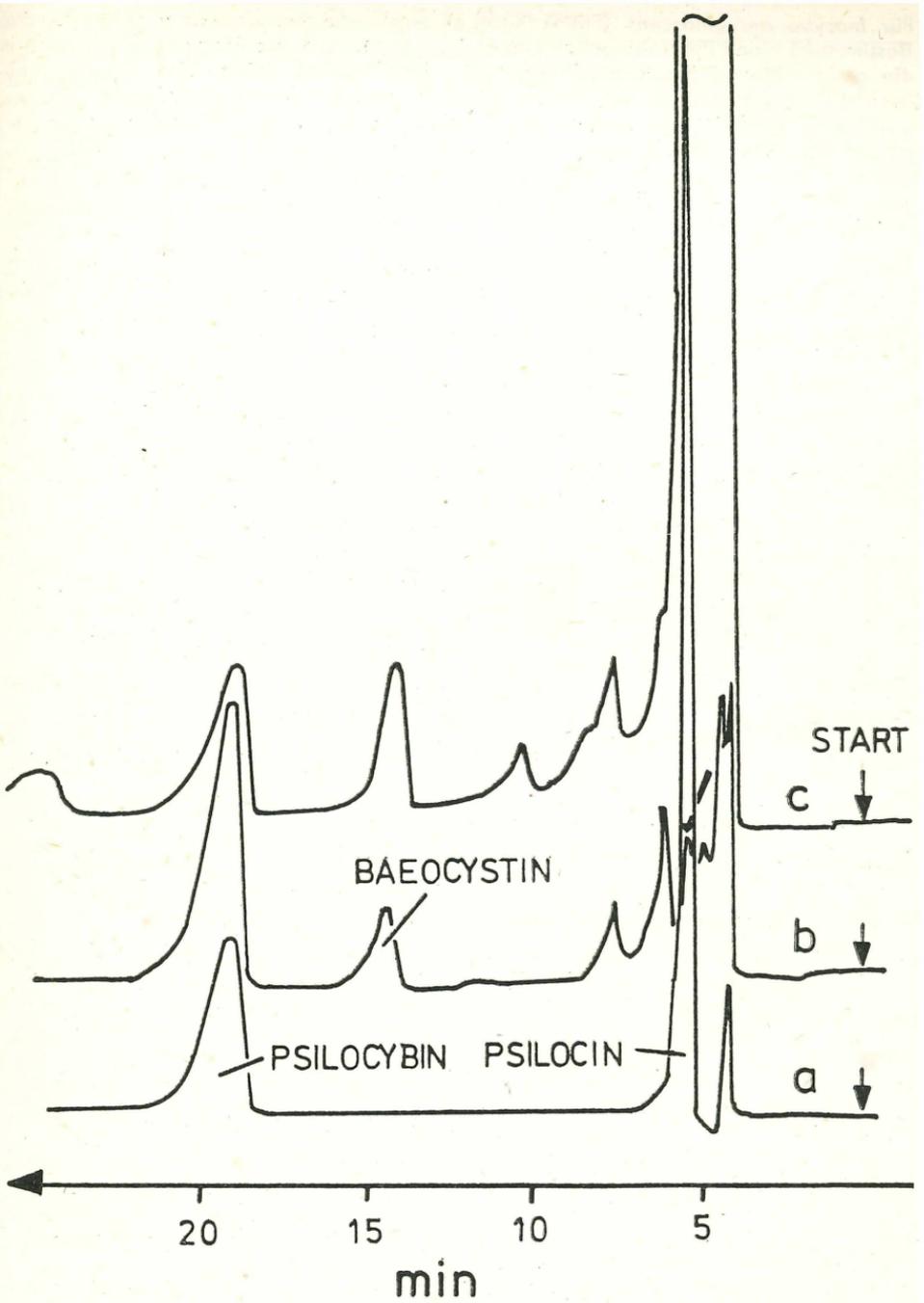


Fig. 1 Dünnschichtchromatographie von Indolderivaten aus *Psilocybe semilanceata* und *Inocybe aeruginascens*. (a: Extrakt aus *Psilocybe semilanceata*, 1 = Psilocybin, 2 = Baeocystin, vorläufig identifiziert; b: Authentische Kontrollen, 1 = Psilocybin, 2 = Psilocin; c: Extrakt aus *Inocybe aeruginascens*; d: 1 = 5-Hydroxytryptophan, 2 = Tryptophan, 3 = 5-Hydroxytryptamin, 4 = Tryptamin).

Wie aus Fig. 2 ersichtlich, enthält *Psilocybe semilanceata* (Kurve b) Psilocybin wie bereits von MICHAELIS (3) beschrieben und nur geringe Mengen Psilocin (Pfeil). Der Elutionspeak bei 14 min läßt sich in Übereinstimmung mit dem dünn-schichtchromatographischen Befund Baeocystin zuordnen. Baeocystin war von MICHAELIS (3) mit etwa einem Drittel der Psilocybinmenge abgeschätzt worden, was mit der vorliegenden hochdruckchromatographischen Bestimmung gut übereinstimmt. Die Zuordnung dieses Peaks zu Baeocystin wird weiterhin durch die Untersuchungen von CHRISTIANSEN und RASMUSSEN erhärtet, die bei einer vergleichbaren Elutionsfolge den Vorpeak vor Psilocybin massenspektrometrisch als Baeocystin identifiziert haben (6). Der Psilocybin-gehalt von *Psilocybe semilanceata* liegt mit 11,1 mg/g (bezogen auf das Trockengewicht) in dem Bereich von 0,6–12,8 mg/g, der für diesen Pilz im pazifischen Nordwesten der USA gefunden wurde (9).



Für *Inocybe aeruginascens* (Fig. 2, Kurve c) ergibt die hochdruckchromatographische Bestimmung einen Psilocybingehalt von 0,04 mg/g (bezogen auf Frischgewicht) und etwa die gleiche Menge Baeocystin. Psilocin läßt sich in diesem System nicht quantitativ bestimmen, da es von einer großen Menge Tryptophan — das ebenfalls im Durchbruchspektrum erscheint — überdeckt wird, jedoch sind nach den dünnschichtchromatographischen Analysen nur Spuren von Psilocin enthalten.

Literatur:

- (1) DREWITZ, G.: Eine halluzinogene Rißpilzart, der Grünlichverfärbende Rißpilz — *Inocybe aeruginascens* —. Myk. Mitt. Blatt 26 (1): 11—17, 1983.
- (2) KASPAR, R.: *Inocybe aeruginascens* bei Berlin-Köpenick. Erstfund für die DDR. Myk. Mitt. Blatt 21 (3): 99—100, 1977.
- (3) MICHAELIS, H.: *Psilocybe semilanceata* (Fr.) Quél. (Spitzkegeliger Kahlkopf), Nachweis von Psilocybin in deutschen Funden. Z. Pilzk. 43: 305—310, 1977.
- (4) BEUG, M. W. and BIGWOOD, J.: Quantitative analysis of psilocybin and psilocin in *Psilocybe baeocystis* (Singer and Smith) by high-performance liquid chromatography and by thinlayer chromatography. J. Chromatogr. 207: 379—385, 1981.
- (5) WURST, M., SEMERDŽIEVA, M. and VOKOUN, J.: Analysis of psychotropic compounds in fungi of the genus *Psilocybe* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 288: 229—235, 1984.
- (6) CHRISTIANSEN, A. L. and RASMUSSEN, K. E.: Analysis of indole alkaloids in Norwegian *Psilocybe semilanceata* using high-performance liquid chromatography and mass spectrometry, J. Chromatogr. 244: 357—364, 1982.
- (7) PERKAL, M., BLACKMAN, G. L., OTTREY, A. L. and TURNER, L. K.: Determination of hallucinogenic components of *Psilocybe* mushrooms using high performance liquid chromatography, J. Chromatogr. 196: 180—184, 1980.
- (8) SOTTOLANO, S. M. and LURIE, I. S.: The quantitation of psilocybin in hallucinogenic mushrooms using high performance liquid chromatography, J. Forensic Sci. 28: 929—935, 1983.
- (9) BEUG, M. W. and BIGWOOD, J.: Psilocybin and psilocin levels in twenty species from seven genera of wild mushrooms in the pacific north-west, U.S.A. J. Ethnopharmacol. 5: 271—285, 1982.
- (10) BOHUS, G. und M. BABOS in: *Fungorum rariorum icones coloratae, Pars VIII*: 11—14, 1977.

G. HAESSELBARTH und Prof. Dr. J. SALNIKOW, Technische Universität Berlin, Institut für Biochemie und Molekulare Biologie, Franklinstraße 29, D - 1000 Berlin 10
H. MICHAELIS, Unter den Rüstern 12, D - 1000 Berlin 41

*) Während der Drucklegung dieses Berichts erschien in Pharmazie 35: 134 (1985) eine Information von J. GARTZ über den Nachweis von Psilocybin in der gleichen Pilzart. die Red.

Fig. 2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie von Indolderivaten aus *Psilocybe semilanceata* und *Inocybe aeruginascens*. [a: Authentisches Psilocybin (1 µg) und Psilocin (1 µg); b: Extrakt aus *Psilocybe semilanceata*; c: Extrakt aus *Inocybe aeruginascens* (1 µl)].

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mykologisches Mitteilungsblatt](#)

Jahr/Year: 1985

Band/Volume: [28](#)

Autor(en)/Author(s): Haeselbarth Gisela, Salnikow Johann, Michaelis Heinz

Artikel/Article: [Nachweis von Psilocybin in *Inocybe aeruginascens* Babos 59-62](#)