

Wirkstoffe aus dem Fliegenpilz

CONRAD HANS EUGSTER

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich*

1. Der Fliegenpilz als zentralaktive Droge

Der Fliegenpilz, *Amanita muscaria* (L. ex Fr.) HOOKER, ist nicht nur der schönste unserer Großpilze, sondern auch der bekannteste. Leute, die sonst keine Pilze sicher zu unterscheiden und benennen vermögen, kennen wenigstens ihn. Er wird vielerorts geradezu als Symbol für einen Giftpilz genommen. Giftig ist er ohne Zweifel, aber zum Tode führt eine Fliegenpilzvergiftung nur ausnahmsweise. Der sehr viel giftigere und lebensgefährliche Knollenblätterpilz, *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) SECR., ist vergleichsweise viel weniger bekannt. Dieser merkwürdige Sachverhalt mag daher rühren, daß vielleicht heute noch Erinnerungsreste an eine uralte Verwendung des Fliegenpilzes zu *Berausungszwecken* in breiten Kreisen lebendig geblieben sind. Auch die häufige Erscheinung des Fliegenpilzes als Amulett und Glückssymbol, sowie in Illustrationen zu gewissen Märchen, deutet in dieselbe Richtung. Jedoch haben wir aus Europa keine einwandfreien Zeugnisse über den Gebrauch als psychotrope Droge in historischer Zeit. Bezeugt ist dieser jedoch mehrfach für sibirische Völker. Der älteste und wohl bekannteste Bericht stammt vom schwedischen Offizier PHILIP JOHANN VON STRAHLENBERG (Stockholm 1730), der seine Kriegsgefangenschaft zu einer Forschungsreise durch Rußland und Sibirien benutzen konnte. Er schrieb von den Koriaken:

Koreiki. Ein heydnisches Volk, wohnen in Westen und Norden des Kamtschackischen oder Lamasischen Meerbusens, haben keine Härte, eben wie die Lappen, Samojeden und Ostiaken; Denn erstlich haben sie von Natur wenig Haare ums Maul, und die wenigen, die sie noch haben, rauffen und ziehen sie vollends aus, wie die Jakuthen, Tungusen und Kalmücken. Von Natur sind solche zwar fromme Leute; und haben keine Götzen von Stein, Holz noch anderer Materie, wie die Ostiaken, ja brauchen keine einhige Ceremonie im Bethen, sondern wenn sie auf dem Wildfang ausziehen, bitten sie Gott, daß er sie segnen und guten Fang beschekhen wolle. Dabey aber haben sie dennoch ihre Schaamans und Wahrsager, und sind sehr säuisch. Ihre Hütten bauen sie nicht klar auf der Erden, wie andere Latern, sondern auf 4. Pfählen in der Luft, wie die Americaner, (†) zu welchen sie mit Leitern oben ins Dachloch hinein steigen. Ihren Beschuff thun sie bey sich in der Hütten in einen hölzern Zuber, den sie oben zum Loch hinaus tragen, und brauchen selben auch zugleich rein Wasser mit zurück und hinein zu tragen. Eine ganze Familie lieget ganz nackend unter einer grossen Decke. Die Kuffen, so mit ihnen handeln und verkehren, bringen ihnen unter andern Waaren auch eine Art Schwämme, die in Rußland wachsen, hin, welche auf Russisch Muchumor genannt werden, die sie vor Eichhörnner, Füchse, Hermelinen, Zobeln ic. an sich tauschen, da denn die Reichen unter ihnen eine ziemliche Provision von diesen Schwämmen sich zum Winter machen können. Wenn sie nun ihre Fest-Tage und Collaciones halten wollen, gießen sie Wasser auf diese Schwämme, kochen selbige, und trincken sich davon voll, alsdenn lagern sich um der Reichen Hütten die Armen, die sich dergleichen Schwämme-Provision nicht machen können, und warten biß einer von den

Gästen herunter kömmt, sein Wasser abzuschlagen, halten ihm eine hölzerne Schaafe unter, und sauffen den Urin in sich, worinn noch einige Krafft von den Schwämmen steckt, davon sie auch voll werden, wollen also solche kräftige Wasser nicht so vergeblich auf die Erde fallen lassen. Im Frühjahr und Sommer-Zeit fangen sie die Fische in grosser Menge, alsdenn graben sie eine Grube in die Erde, füttern solche mit Birckenen Rinden aus, füllen solche voll mit Fischen und bedecken sie mit Erde. Wenn solche nun wohl verfaulet und mürbe worden, nehmen sie zum Gebrauch von dieser Porage, gießen Wasser darauf, kochen solches, als wie sonst das Bier, mit glühenden Steinen, so in Finnland sehr gebräuchlich, und genießen es, als wie eine grosse Delicatesse, welches aber so sehr stincket, daß auch die dahin handelnden Russen, die sonst auch noch ziemlich was vertragen, dabey vor Gestand nicht dauern und bleiben können. Sie sauffen sich eben wohl hievon auch voll und toll.

Spätere Forschungsreisende erwähnten ähnliche Gebräuche bei den Tschuktschen, Kamtschadalen und Jukagiren in E- und NE-Sibirien, Jenissei-Ostjaken (unterer Ob), Wogulen, Ostjak-Samojeden (oberer Ob), Tscheremissen und Mordwinen (W der Wolga). Noch 1926 traf KAI DONNER bei Samojeden am Ket Schamanen, die Fliegenpilze verzehrten, um in Trance zu kommen.

Die Symptome der Berausung sind oft beschrieben worden; Erregungszustände, Halluzinationen und tiefer Schlaf wurden mehrfach erwähnt. Unklar scheint die Rolle mitgenossener (alkoholischer?) Getränke zu sein.

In der chemischen Erforschung der Wirkstoffe des Fliegenpilzes lassen sich zwei Hauptperioden unterscheiden. Nach tastenden Versuchen ab 1811 konzentrierte sich das Interesse immer mehr auf basische Inhaltsstoffe, was bei der damaligen Entwicklung der Alkaloidchemie natürlich war. 1869 entdeckten SCHMIEDERBERG und KOPPE (damals tätig an der Universität Dorpat) das *Muscarin* dank seiner sehr hohen und spezifischen Wirkungsstärke. Die Lösung des Muscarin-Rätsels gelang aber erst 1954—1960 (Isolierung der Reinsubstanz, Strukturaufklärung, Synthesen).

Seither stehen die psychotropen *3-Hydroxyisoxazol*-Derivate im Vordergrund des Interesses.

Es steht heute fest, daß Muscarin im Grunde genommen nur ein Nebenwirkstoff des Fliegenpilzes ist. Verschiedene *Inocybe*-Arten enthalten viel höhere Mengen und sind deshalb auch wesentlich gefährlichere Giftpilze als der Fliegenpilz (vgl. Tabelle 1). Die Wirkstoffe werden hier in der Chronologie ihrer Bearbeitung besprochen.

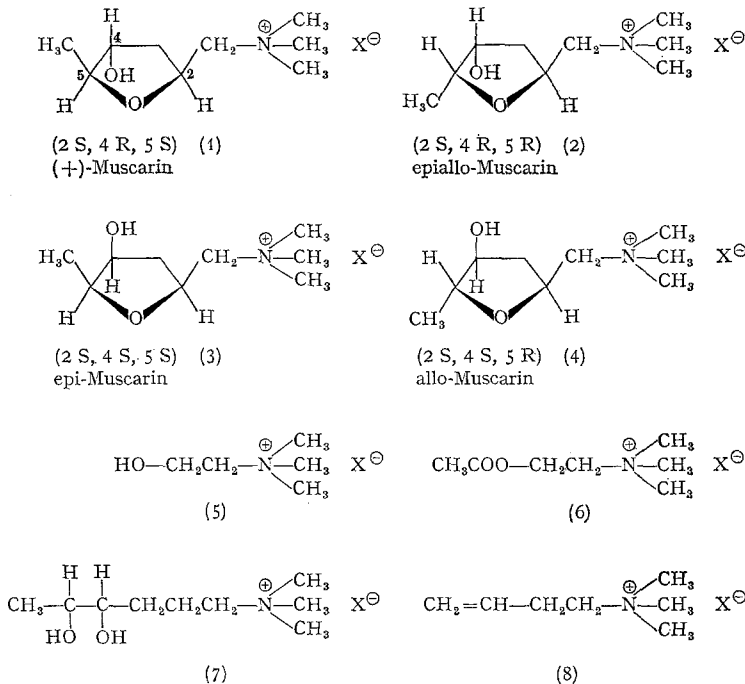
2. Muscarin und andere quaternäre Ammoniumbasen

Muscarin (1) ist eine salzartige Verbindung (quaternäre Ammoniumbase) und ein Derivat des Tetrahydrofurans. Das Chlorid hat die Summenformel

* Den Herren Dr. Dr. h. c. A. KREBSER und Dr. Dr. h. c. W. G. STOLL, J. R. Geigy AG, Basel, in Dankbarkeit gewidmet.

$C_9H_{20}O_2N^+Cl^-$. Die drei Substituenten am Tetrahydrofuranring (Methylgruppe, Hydroxygruppe und basische Seitenkette) führen zu vier Racematen, die nach einer Konvention als Muscarin (1), epi-Muscarin (3), allo-Muscarin (4) und epiallo-Muscarin (2) bezeichnet werden. Alle sind heute bekannt und synthetisch hergestellt worden:

Formelschema 1



Natürliches, aus Fruchtkörpern von Fliegenpilzen isoliertes (+)-Muscarin ist 2 S, 4 R, 5 S-(4-Hydroxy-5-methyl-tetrahydro-furfuryl)-trimethylammonium-Salz. Weder der Antipode (2 R, 4 S, 5 R), noch eines der stereoisomeren Muscarine sind bisher in der Natur gefunden worden. Nachweis und Differenzierung dieser Stoffe wären auch nur durch sehr eingehende Vergleiche von physikalischen und biologischen Eigenschaften zu erbringen (chromatographische Verfahren allein genügen nicht), was jedoch bei den meist geringen zur Verfügung stehenden Mengen auf praktische Schwierigkeiten stößt.

Muscarin ist im Pilz in wasserlöslicher Form enthalten (ob auch lipoid-lösliches, lecithin-artig gebundenes Muscarin in der Huthaut vorkommt, bleibt zu untersuchen), und geht deshalb beim Abbrühen der Fruchtkörper mindestens zum Teil in das Kochwasser über. Dabei wird es, entgegen gelegentlich geäußerten Meinungen in der mykologischen Literatur, nicht zerstört. Eine gleichmäßige Verteilung in den Carpophoren ist nicht anzunehmen. So stellten wir in der Huthaut eine deutlich erhöhte Konzentration fest, sodaß die in Pilzbüchern erwähnte „Entgiftung“ durch Enthäuten der Fliegenpilze einen naturwissenschaftlich begründeten Sinn hat. Vermutlich ist die größte Muscarinkonzentration in der gelben, direkt unter der Haut befindlichen Schicht zu finden. Genaue Untersuchungen stehen noch aus.

Wichtige Muscarinsalze sind: (+)-Chlorid ($X^- = Cl^-$), Smp. 181—182 °C, $[\alpha]_D + 8,1^\circ$, farblos, neutral, äußerst hygroskopisch und wasserlöslich; (+)-Jodid ($X^- = J^-$), Smp. 150 °C, fast farblos, kaum hygroskopisch, in Wasser leicht löslich; (+)-Tetrachloraurat, ($X^- = AuCl_4^-$), Smp.

122—123 °C, gelb, in kaltem Wasser ziemlich schwerlöslich; (+)-Reineckat ($X^- = [(NH_3)_2Cr(SCN)_4]^-$), Smp. 181—182 °C, rot, schwerlöslich in Wasser, leicht löslich in Aceton, geeignet zur Abscheidung und Reinigung von Muscarin aus Konzentraten; (+)-Tetra-phenylboranat ($X^- = (C_6H_5)_4B^-$), Smp. 174—175 °C, farblos, unlöslich in Wasser, löslich in Aceton.

Vorkommen: Tabelle 1 orientiert über neuere Arbeiten, die bezüglich Nachweis oder Bestimmung des Mus-

Tabelle 1. Vorkommen von Muscarin

<i>Amanita muscaria</i> (L. ex Fr.)	0,0002—0,0003 % ab [6]
HOOKER	
<i>Inocybe Patouillardii</i> BRES.	0,037 % ab [9, 10]
<i>I. fastigiata</i> (Schff. ex Fr.) QUÉL.	0,01 % ab [11]
<i>I. umbrina</i> BRES.	0,003 % ab [11]
<i>I. Bongardi</i> (Weinm.) QUÉL.	nil. ab [11]
<i>I. lilacina</i> (Boudier) KAUFFMAN	0,25—0,31 % ed 0,38 % ee [12]
<i>I. obscuroides</i> ORTON (Stuntz 3761)	0,42—0,53 % ed, 0,11—0,80 % ee [12]
<i>I. sororia</i> KAUFFMAN	0,26—0,35 % ed, 0,13—0,28 % ee [12]
<i>I. nigrescens</i> ATKINSON	nil ed, nil ee [12]
<i>I. naptipes</i> LANGE	0,23—3,15 % ed, 0,73 % ee [12]
<i>I. picrosma</i> STUNTZ	0,005 % ed, < 0,009 % ee [13]
<i>I. Kauffmanii</i> A. H. SMITH	0,486 % ed [13]
<i>I. Stuntz 4292</i>	0,144 % ed [13]
<i>I. Stuntz 1790</i>	0,255 % ed, < 0,01 % ee [13]
<i>I. Stuntz 1838</i>	0,158 % ed, 0,03 % ee [13]
<i>I. terrifera</i> KÜHNER	0,269 % ed, 0,01 % ee [13]
<i>I. geophylla</i> (Fries) var. <i>geophylla</i> P. KARSTEN	0,259 % ed, 0,16 % ee [13]
<i>I. pudica</i> KÜHNER	0,117 % ed, 0,12—0,17 % ee [13]
<i>I. olympiana</i> A. H. SMITH	0,336 % ed [13]
<i>I. subdestricta</i> KAUFFMAN	0,421 % ed, 0,22 % ee [13]
<i>I. gausapata</i> KÜHNER	0,438 % ed [13]
<i>I. Stuntz 2147</i>	0,476 % ed, 0,07—0,18 % ee [13]
<i>I. griseolilacina</i> LANGE	0,835 % ed, 0,17 % ee [13]
<i>I. Stuntz 3399</i>	0,116 % ed, 0,05 % ee [13]
<i>I. Stuntz 1774</i>	0,105 % ed, 0,06 % ee [13]
<i>I. lacera</i> (Fries) QUÉLET	0,846—1,00 % ed, 0,08 % ee [13]
<i>I. cinnamomea</i> A. H. SMITH	0,251 % ed, 0,03 % ee [13]
<i>I. mixtilis</i> (Britz.) SACCARDO	1,33 % ed, 0,10 % ee [13]
<i>I. xanthomelas</i> BOURSIER & KÜHNER	0,09 % ed, < 0,01 % ee [13]
<i>I. praetervisa</i> QUÉLET	0,107 % ed [13]
<i>I. albidisca</i> PECK	0,003 % ed, < 0,01 % ee [13]
<i>I. oblectabilis</i> (Britz.) SACCARDO <i>f. ma. decemgibbosa</i> KÜHNER	0,317 % ed [13]
<i>I. Stuntz 3832</i>	0,161 % ed [13]
<i>I. decipientoides</i> PECK	0,782 % ed [13]
<i>I. Stuntz 1540</i>	1,98 % ed, 0,23—0,24 % ee [13]
<i>Clitocybe dealbata</i> (Sow. ex Fr.) KUMMER	0,15 ± 0,04 % ebe [14]
<i>C. rivulosa</i> (Pers. ex Fr.) KUMMER	0,013 % fb [15]

a Bezogen auf Frischgewicht der Fruchtkörper.

b Bestimmt durch Isolierung.

c Bezogen auf Trockengewicht der Fruchtkörper.

d Bestimmt durch biologische Teste.

e Bestimmt durch chromatographischen Fleckenvergleich.

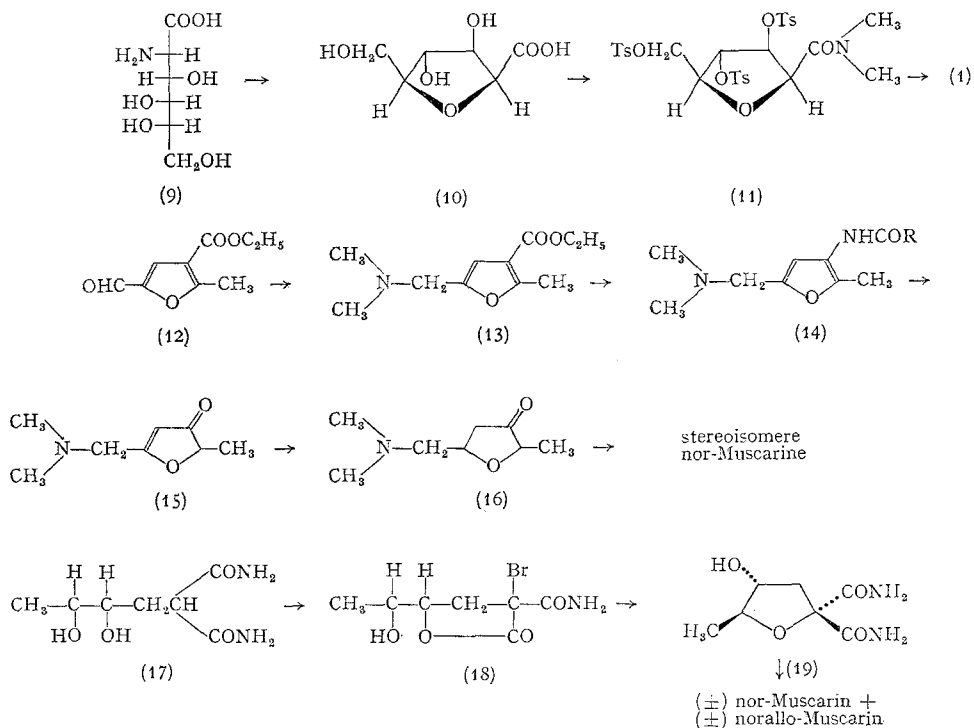
f Bezogen auf Trockengewicht Mycel.

carins ausgeführt worden sind. Es ist daraus zu entnehmen, daß Muscarin bisher nur in einer einzigen *Amanita*-Art sicher nachgewiesen worden ist. Als eigentliches Muscarin-führendes Genus muß hingegen *Inocybe* FRIES angesprochen werden, was ja schon seit den älteren Arbeiten von WICKI et al. an schweizerischen *Inocybe*-Arten angenommen werden durfte. WICKI's quantitative Angaben bedürfen, wie wir schon 1956 betont hatten [6], der Überprüfung, weil der ehemals verwendete Muscarinstandard falsch ist und weil die biologische Testierung (am isolierten Froschherz nach STRAUB) ohne Rücksicht auf andere Stoffe mit muscarinischer Wirkung ausgeführt worden ist; d. h. ältere Gehaltsangaben beziehen sich unter Umständen überhaupt nicht auf Muscarin. Chemisch isoliert worden ist Muscarin unseres Wissens bisher erst aus *I. Patouillardii*, *I. fastigiata*, *I. umbrina*, *Clitocybe dealbata* und *C. rivulosa*. In neuerer Zeit sind die Untersuchungsmethoden durch Verwendung spezifischer Testverfahren und Kontrolle durch chromatographische Methoden (MALONE, TYLER et al. [12, 13]) verfeinert worden. Trotzdem bestehen, wie aus der Tabelle 1 an mehreren Beispielen klar ersichtlich ist, bedeutende Diskrepanzen zwischen biologischen und chromatographischen Gehaltsbestimmungen, die in diesen Fällen nicht auf Acetylcholin, sondern wahrscheinlich auf noch unbekannte Wirkstoffe zurückzuführen sind. Wir hatten 1959 [11] auf solche Nebstoffe in *I. umbrina* und *I. Bongardi* hingewiesen.

Arten, sowie außerhalb des Pilzreiches. In *Amanita pantherina* (DC. ex Fr.) SECR., der laut einer alten Angabe Muscarin enthalten soll, konnten wir in zwei Versuchen an Carpophoren schweizerischer Herkunft chemisch kein Muscarin nachweisen [18]. Einzelne Zahlenangaben der Tabelle 1 dürften wegen ungeeigneter Aufarbeitung (z. B. bei *C. rivulosa*, wo mit wasser-gesättigtem Butanol, in dem Muscarin erheblich löslich ist, entfettet wurde) zu niedrig sein. Nicht zu übersehen ist natürlich auch die inhärente Variabilität des Ausgangsmaterials.

Synthesen: Die Synthesen für Muscarin, seine Stereoisomeren, Homologe und Analoge sind im letzten Jahrzehnt außerordentlich stark ausgebaut worden [7, 8]. Dazu regte nicht nur die hohe und spezifische Wirkungsweise der Molekel an, sondern vor allem auch die Tatsache, daß hier wegen der klaren und auf kleinstem Raum verwirklichten Stereochemie eingehende Studien über Struktur-Wirkungsbeziehungen angestellt werden konnten. Die Isomeren unterscheiden sich in ihrer biologischen Aktivität unerwartet stark. Nicht nur ist die Anordnung der Substituenten in der Muscarin-Molekel für die spezifische Muscarinwirksamkeit optimal, sondern der Muscarin-Rezeptor scheint auch eine fast absolute optische Spezifität zu zeigen, denn (–)-Muscarin ist praktisch unwirksam [19]. Die wichtigsten Methoden, die zur Synthese des Muscarins und seiner Isomeren dienen, sind die folgenden [7, 8]:

Formelschema 2



MALONES und TYLERS Arbeiten beziehen sich auf NW-amerikanische *Inocybe*-Arten. Qualitative Angaben an japanischen Arten (positiver Nachweis bei *I. asterospora*, *I. rimosa*, *I. Cookei*, *I. umbrina*) haben ISHIDA und TAKATSU gemacht [16]. Aller Voraussicht nach unrichtig sind ältere Angaben [17] über Vorkommen von Muscarin in *Boletus luridus* Schff. ex Fr., *Russula emetica* Schff. ex Fr., und anderen *Russula*-

L-Chitarsäure (10), die aus dem „unnatürlichen“ *L*-Glucosamin (9) gewonnen werden kann, läßt sich in Form ihres *O*-Tritosyl-*N*-dimethylamides (11) mittel- LiAlH_4 zum (+) nor-Muscarin reduzieren. Die Ausbeuten sind schlecht (12%) und zudem entstehen unerwünschte Isomere. Die Methode hat aber ihren besonderen Wert, weil damit die absolute Konfiguration des Muscarins festgelegt werden konnte (HARDEGGER

und LOHSE [20]). Später ist sie durch Verwendung von 2-Desoxy-D-ribose als Ausgangsmaterial verbessert worden (HARDEGGER et al. [21]).

Geeignete Furan-3-carbonsäureester, z. B. (12), die sich durch Kondensation von Glucose und Acetessigester und Abbau der Tetrahydroxybutyl-Seitenkette zur Formyl-Stufe gewinnen lassen, erlauben den Einbau der basischen Seitenkette durch Leuckart-Reaktion zu (13) und Umwandlung des Furans durch Curtius-Abbau und saure Hydrolyse des β -Acyl-aminofurans (14) in die eigentliche Schlüsselsubstanz, das nor-Dehydromuscaron (15), aus dem sich durch geeignete Reduktion alle racemischen Muscarinisomeren gewinnen ließen (EUGSTER et al. [22]).

Für die Synthese des nor-Dehydromuscarons (15) sind in neuerer Zeit auch Diacetylvorprodukte eingesetzt worden (MEISTER [23]; GUSEV et al. [24]). Für (\pm) nor-Muscaron und (\pm) nor-allo-Muscaron haben HARDEGGER et al. [25] einen weiteren Weg ausgearbeitet, der mit der Addition von Milchsäureester an Maleinester unter Bildung eines substituierten β -Tetrahydrofuranons beginnt.

Die Reduktion der Carbonylgruppe des nor-Muscarons (16) und des norallo-Muscarons konnte bis heute nicht stereospezifisch durchgeführt werden [26]; es entsteht immer ein Gemisch der stereoisomeren nor-Basen. MATSUMOTO et al. [27] haben geeignet substituierte γ -Lactone, z. B. (18), in 2-Methyl-3-hydroxy-tetrahydrofuran-5,5-dicarbon säurediamid (19) mit definierter Stereochemie verwandelt, aus dem sich (\pm)-Muscarin und (\pm)-allo-Muscarin gewinnen ließ.

Ein früherer Versuch von KÖGL et al. [28], γ -Lactone zur Synthese von Muscarin zu verwenden, hat zu einem bis heute nicht aufgeklärten Substanzgemisch geführt. Aber auch andere Autoren haben wegen Unterschätzung der Trennprobleme, die sich auf der Stufe der quaternären Basen stellen, mit Substanzgemischen gearbeitet. Erst in neuesten Publikationen sind Eigenschaften früher hergestellter „Muscarin-Isomere“ stillschweigend korrigiert worden.

Analytisches: Die nor-Basen der stereoisomeren Muscarine können bequem säulenchromatographisch an Aluminiumoxid [22] oder dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel [26] getrennt und identifiziert werden. Analoge Trennungen an den quaternären Salzen sind trotz anderslautenden Angaben in der Literatur bis heute nicht praktikabel geworden.

Bei der Isolierung von (+)-Muscarin aus Pflanzenmaterial war früher die Abtrennung des Cholins ein Haupthindernis zur Reindarstellung des Muscarins. Es wurde erstmals durch Verteilungschromatographie an Cellulosesäulen [29] überwunden. Später wurden Ionenaustauscher für diesen Zweck vorgeschlagen [30, 31]. Heute dürfte die Chromatographie an Aluminiumoxid mittels Aceton-Methanol die bequemste Methode darstellen [14].

Für die Papierchromatographie sind eine große Zahl von Lösungsmittelsystemen und Sprühreagentien vorgeschlagen worden (vgl. [7]). Am bequemsten ist immer noch der Nachweis mit dem von uns 1954 [29] vorgeschlagenen Dragendorffschen Reagens. Es erlaubt den Nachweis von 5 bis 6 μ g Muscarinchlorid. Empfindlicher ist der dünnschichtchromatographische Nachweis: Dragendorffsches Reagens und Nachsprühen mit 5%iger Schwefelsäure gibt einen

gelb-orangen Fleck, der bis zu 0,4 μ g erkannt werden kann [14]. Cholin erzeugt einen rot-violetten Fleck.

Tabelle 2. Systeme zum dünnschichtchromatographischen Nachweis von Cholin und Muscarin auf Aluminiumoxid G [14]

System	R _F -Cholin	R _F -Muscarin
Aceton-Methanol 1:1	0,43	0,65
Methanol-Benzol-Eisessig 84:42:3	0,64	0,85
Methanol-Essigester-Eisessig 84:24:3	0,62	0,80
Methanol-CCl ₄ -Eisessig 28:12:1	0,85	0,90
Methanol-CHCl ₃ -NH ₄ OH (17%) 47:40:20	0,73	0,78

Ob diese Lösungsmittelsysteme auch zu einer sicheren Trennung von Cholin, Muscarin und Acetylcholin führen, geht aus der Arbeit nicht hervor.

Mehrere Autoren haben nicht beachtet, daß die Natur des Anions einen Einfluß auf das chromatographische Verhalten der quaternären Ammoniumbasen ausübt (z. B. haben Muscarinjodid und -chlorid verschiedene R_F-Werte in papierchromatographischen Systemen).

Für die Isolierung von Muscarin aus Pilzmaterial hat sich der folgende Weg bewährt: Frisches Pilzmaterial in 95% Alkohol fein zerhacken; filtrieren und den Rückstand 2 bis 3mal mit 95% Alkohol nachextrahieren; Filtrat im Vakuum zum dünnen Sirup eindampfen; diesen durch Ausschütteln mit Äther entfetten; in der Wasserphase gelösten Äther im Vakuum entfernen; Wasserphase mit wenig Norit behandeln; filtrieren; Filtrat durch eine Amberlite IRA 400(OH⁻)-Kolonnen geben und bis zur Neutralität nachwaschen. Perkolat mit verdünnter Essigsäure ansäuern; Lösung im Vakuum zum Sirup eindampfen; Rückstand an neutralem Aluminiumoxid mit Aceton-Methanol (4:1) chromatographisch auftrennen. Aus muscarinhaltigen Fraktionen Muscarin als Reineckat oder Tetrachloraurat fällen und kristallisieren. Da die Reineckatfällung eine gute Anreicherung gibt, kann sie vorteilhaft schon am alkalischen Perkolat durchgeführt werden. Die Zerlegung der Reineckate kann nach KAPFHAMMER oder an einem Anionenaustauscher (Cl⁻) ausgeführt werden [29, 15].

Falls hydrolyseempfindliche Substanzen, z. B. Acetylcholin, nachgewiesen werden sollen, muß der Aufarbeitungsgang abgeändert werden.

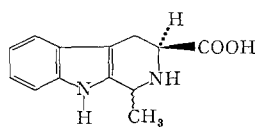
Andere quaternäre Basen, die aus Fliegenpilzen bisher isoliert werden konnten, sind Cholin (5), in sehr kleinen Mengen Acetylcholin (6) [32], „Muscaridin“ [33] (7) (Smp. des Tetrachloraurates 129–131 °C, $[\alpha]_D$ des Chlorides +19,9 °C; es liegt die erythro-Konfiguration vor), sowie die Buten-(1)-yl-(4)-trimethylammonium-Verbindung (8) (Reineckat Smp. 171–177 °C; Tetraphenylboranat, Smp. 223 °C [34]). Die beiden letzteren wurden auch synthetisiert [35]. Über ihre pharmakologischen Eigenschaften ist bisher nichts bekannt. Der Name Muscaridin ist unglücklich gewählt, da derselbe Begriff schon 1892 von KOBERT für eine angeblich zentralwirksame Fraktion („Pilz-atropin“) aus Fliegenpilzen verwendet worden ist.

3. Indolverbindungen und Tropanalkaloide

Die Diskrepanz zwischen den Symptomen einer Fliegenpilzvergiftung und einer experimentellen Muscarinvergiftung ist schon früh aufgefallen. Die Wir-

kung des Muscarins betrifft vornehmlich das periphere Nervensystem. Es scheint nicht in der Lage zu sein, die Blut-Gehirn-Schranke zu passieren. Auch dürfte Muscarin angesichts der geringen Konzentration im Fliegenpilz (2–3 mg/kg Frischpilz) bei oraler Einnahme wenig zum Gesamtbild der Fliegenpilzvergiftung beitragen.

Auf der Suche nach anderen Wirkstoffen kamen nach und nach das „*Pilzatropin*“ (= Muscaridin von KOBERT) in Diskussion. Mit der Bezeichnung war ein pharmakologischer und nicht ein struktureller Sachverhalt gemeint. Trotzdem fing die Suche nach „Atropinbasen“ an, mit einem verwirrenden Resultat: 1954 verneinte KWASNIEWSKI das Vorkommen von atropinartigen Basen in deutschen Fliegenpilzen [36]. 1955 behauptete LEWIS [37], daß er aus südafrikanischen Fliegenpilzen 0,0001% (–)-Hyoscyamin isoliert habe und gab für die aus verdünnter Salzsäure erhaltenen Kristalle den Schmelzpunkt der freien Base an! Die Arbeit erregt auch in anderer Hinsicht große Zweifel. 1962 wollen MANIKOWSKI und NIEZGODZKI [38] in polnischen Fliegenpilzen *Atropin* (\pm Hyoscyamin) und *Scopolamin* gefunden haben. Sie beschränkten sich auf papierchromatographische Nachweismethoden, machten aber auch semiquantitative Studien über Alkaloidgehalte von Hut, Stiel, Sommer- und Herbstpilzen. Es wurden Gehalte von 0,00005 bis 0,000085% festgestellt. Es ist schade, daß die strukturelle Identifikation nicht mit überzeugenderen chemischen und chemisch-physikalischen Methoden durchgeführt worden ist. 1963 konnten SALEMINK et al. [39] in holländischen Fliegenpilzen kein (–)-Hyoscyamin feststellen. Darüber hinaus belegten sie, daß (–)-Hyoscyamin im Aufarbeitungsgang von LEWIS mindestens teilweise zu Tropin hydrolysiert wird. Eine weitere Verwirrung entstand, als WIELAND und MOTZEL (1953) *Bufotenin* (5-Hydroxy-N, N-dimethyltryptamin) in bedeutender Menge aus *Amanita mappa* (Batsch ex Fr.) QUÉL. isolierten und seine Anwesenheit in *A. pantherina* und *A. muscaria* in geringen Mengen papierchromatographisch festgestellt zu haben glaubten [40]. Weder TYLER, der diesem Problem mehrere Studien gewidmet hat [41], noch wir [42] fanden Bufotenin in Fliegenpilzen, TYLER jedoch reichlich in *A. porphyrea* (A. und S. ex Fr.) SECR. und in *A. tomentella* KROMBH. Bei der Suche nach Indolverbindungen stießen wir auf Tryptophan und die Indolverbindung (20) (2,3,4,5-Tetrahydro-2-methyl- β -carbolin-4-carbonsäure) [43].



(20)

Sie könnte durch Kondensation von Tryptophan und Acetaldehyd entstanden sein. Über ihre pharmakologischen Eigenschaften ist noch nichts bekannt.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß eindeutige Beweise für das Vorkommen von Tropanalkaloiden im Fliegenpilz bisher *nicht* erbracht worden sind. Eine Diskussion über ihre mögliche Beteiligung an einer Fliegenpilzvergiftung erübrigt sich schon aus diesem Grunde.

4. Muscimol, Ibotensäure und Muscazon

Nach Abschluß der hauptsächlichsten Arbeiten auf dem Muscarin-Gebiet beschlossen wir 1957, die Bearbeitung der zentralaktiven Stoffe des Fliegenpilzes aufzunehmen. Nach orientierenden Vorversuchen [44] konzentrierten wir uns ganz auf die *wasserlöslichen Inhaltsstoffe*. Im Frühjahr 1959 übergaben wir dem Pharmakologen Dr. W. THEOBALD (Geigy AG, Basel) zahlreiche, möglichst muscarin-freie Fraktionen. Er erkannte in einzelnen eine schwache, aber signifikante Narkosepotenzierung. Dieser Test wurde in der Folge zur Isolierung benutzt, in der Hoffnung, damit zentralaktive Stoffe zu erfassen. Die Arbeiten erwiesen sich als ziemlich langwierig. Zu schaffen machte uns vor allem die Instabilität verdünnter und noch unreiner Konzentrate. Unerwartete Aktivitätsverluste traten bei an und für sich schonenden Verteilungsverfahren z.B. an Cellulosepulversäulen ein. Lange Zeit war auch nicht ersichtlich, daß *zwei* Wirkstoffe vorlagen, von denen der eine besonders labil ist und leicht in den anderen übergeht.

Schließlich glückte die Korrelation von Aktivität und chemischem Nachweis. Es handelte sich um Substanzen mit gelber Ninhydrin-Reaktion und blauer Färbung mit Grotes Reagens. 1960 wurde der erste Wirkstoff

Muscimol (von uns damals β -Toxin genannt) kristallisiert. 1961/62 folgten

Ibotensäure und *Muscazon* (von uns damals α - bzw. α_2 -Toxin genannt [42]).

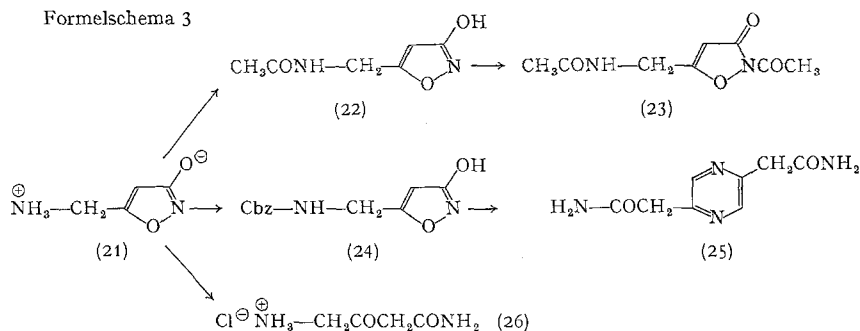
Ibotensäure und Muscimol wurden 1964 unabhängig von uns auch von TAKEMOTO u. Mitarb. in Japan aus *Amanita strobiliformis* (Vitt.) QUÉL., *A. pantherina* (DC. ex Fr.) SECR. und *A. muscaria* isoliert und strukturell aufgeklärt [45]. Zu dieser Zeit waren unsere *Synthesen* allerdings bereits zum Patent angemeldet [46]. Noch später (1965) berichteten auch BOWDEN und DRYSDALE über Versuche in dieser Richtung [47]. Eine 1964 von ONDA et al. [48] aus *Amanita pantherina* isolierte, „Pantherin“ benannte Substanz, ist nach Aussage von ONDA [49] ein Peptid und soll von unserem Muscimol verschieden sein.

Die Nomenklatur der neuen Stoffe ist von EUGSTER und TAKEMOTO festgelegt worden [50].

Es ist bemerkenswert, daß die von den verschiedenen Arbeitsgruppen verwendeten biologischen Testverfahren (Narkosepotenzierung, insektizide Wirkung) zur Isolierung identischer Substanzen geführt haben. Ein Zusammenhang mit den Wirkungen des Fliegenpilzes kann natürlich nur aus dem Narkosepotenzierungstest abgeleitet werden. Dem Fliegenpilz werden seit alters *fliegen-tötende Wirkungen* zugeschrieben. Die neuen Hydroxy-isoxazole Muscimol und Ibotensäure haben tatsächlich schwache insektizide Eigenschaften, die aber nur in Fraßversuchen in Erscheinung treten. Die Mehrzahl der Fliegen überlebt; nach einem Zustand des Scheintodes erholen sie sich wieder. Mit dem Maßstab der praktischen Verwendungsmöglichkeiten im Pflanzenschutz, bzw. in der Hygiene gemessen, kann ihnen keine insektizide Wirkung zugesprochen werden [51]. Es ist offen, ob der Fliegenpilz noch unbekannte, eventuell stärker insektizid wirksame Stoffe enthält.

Muscimol (21), $C_4H_6O_2N_2$, farblose Kristalle, Smp. 155–156 °C (Hydrat), 174–175 °C (wasserfrei) ist das

Enolbetain von 5-Aminomethyl-3-hydroxyisoxazol. Infolge der salzartigen Natur ist die Verbindung sehr polar und bereits kaum mehr in Alkohol löslich. Die in Formelschema 3 angegebenen Reaktionen sind bemerkenswert und charakteristisch [52].



Die Van-Slyke-Reaktion täuscht 2 Mole N_2 vor; entwickelt werden, wie eigene neuere Untersuchungen gezeigt haben, N_2 , N_2O und CO_2 . Muscimol liegt in der Lactim-Form vor, ebenso seine N-Monoacyl-Derivate, z. B. (22), bei denen die stark saure Lactim-Form in Erscheinung tritt: N-Cbz-Muscimol (24) hat pK_{MCS} 7,95 (ist also stärker sauer als p-Nitrophenol). Es liefert ein in Wasser und organischen Lösungsmitteln schwerlösliches Silbersalz. N-Cbz-Muscimol reagiert mit HNO_2 analog einer Hydroxamsäure und spaltet ungefähr je ein Aeq. N_2O und CO_2 ab. Bei der Weiteracylierung können Diacyl-Derivate gefaßt werden, bei denen der α, β -ungesättigte Lactamchromophor zum Vorschein kommt: Muscimol hat λ_{max} 203 nm, ϵ 6650 ($\text{H}_3\text{O}^\oplus$, pH 2), Diacetyl-Muscimol (23) λ_{max} 250 nm.

Die N-Diacyl-Derivate werden als anhydridartige Verbindungen wieder leicht zur Monoacyl-Stufe verseift. Katalytische Hydrierungen an Muscimol und Derivaten spalten bevorzugt die N-O-Bindung. Das entstehende γ -Aminoacetatessigsäureamid kann in stark saurer Lösung als Salz (26) gefaßt werden. Bei höheren pH dimerisiert es in der Art der α -Aminoketone unter Wasserabspaltung und Dehydrierung in Gegenwart des Katalysators zu einem hochpolaren, schwerlöslichen Pyrazin-Derivat (25) mit charakteristischem UV-Spektrum (λ_{max} 273 nm). Vermutlich entsteht daneben durch Hydrierung auch das Piperazin-Derivat (31).

Muscimol ist wahrscheinlich kein genuiner Inhaltsstoff von *A. muscaria*. Es entsteht sehr leicht aus der labilen Ibotensäure durch Decarboxylierung, teilweise schon während der Aufarbeitung (Formelschema 4).

Ibotensäure (27), $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5\text{N}_2$, farblose Kristalle, Smp. 145 °C (Zers.), (aus Wasser) ist eine α -Aminocarbonsäure. Von den acht Wasserstoffatomen werden sechs beim Lösen in D_2O sofort, ein siebtes langsam ausgetauscht. Die Verbindung ist optisch inaktiv. Sie absorbiert im UV kurzwellig: λ_{max} 210 nm (ϵ 6150) bei pH 4. Die Farbreaktion mit Ninhydrin ist intensiv gelb. Der Fleck verfärbt sich wie beim Muscimol über bräunlich nach violett. Grotes Reagens gibt einen blauen Fleck. Ibotensäure kann nicht wasserfrei erhalten werden; beim Versuch, das Kristallwasser zu entfernen, tritt Decarboxylierung unter Bildung von Muscimol ein. Diese Überführung geschieht auch beim Erhitzen von wäßrigen Lösungen, beim Lösen in Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid oder Pyridin.

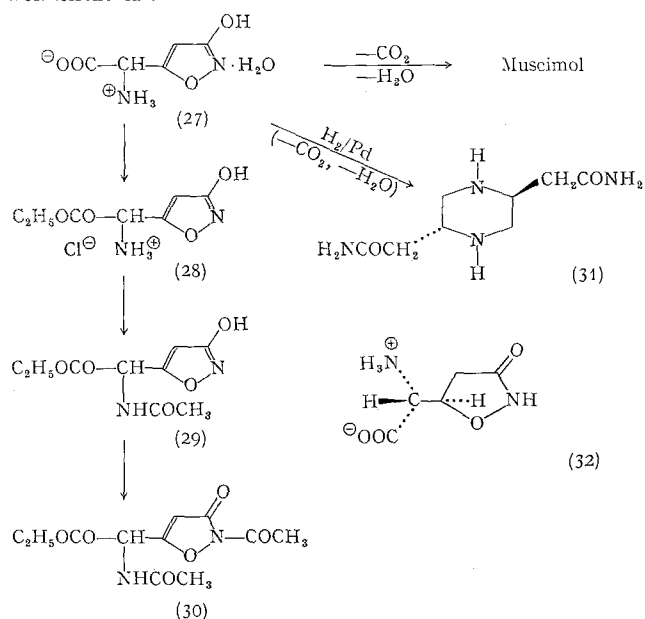
Bei der Van Slyke-Reaktion werden neben N_2 auch CO_2 und N_2O gebildet [52]. Die katalytische Hydrierung erzeugt durch Hydrogenolyse der N-O-Bindung ein α -Aminoketon, das durch Dimerisation und Reduktion in das trans-Piperazin-Derivat (31), eine polare, hochschmelzende Verbindung, übergeht.

Veresterungen und Acylierungen sind an der Ibotensäure bei vorsichtigem Arbeiten möglich, dabei kann am Ester-diacetat (30) das α, β -ungesättigte Lactam durch seine UV-Absorption (λ_{max} 252 nm) erkannt werden.

Schließlich soll die erythro-Dihydroibotensäure = Tricholomasäure (32), die von TAKEMOTO und NAKAJIMA [53] aus *Tricholoma muscarium*

KAWAMURA isoliert worden ist, erwähnt werden. Die Substanz erregt zur Zeit besonderes Interesse wegen ihrer geschmackverbessernden Wirkung, die diejenige des Natriumglutamates erheblich übertreffen soll. Sie erhöht synergistisch den Geschmack von Inosin- und Guanylsäure.

Formelschema 4

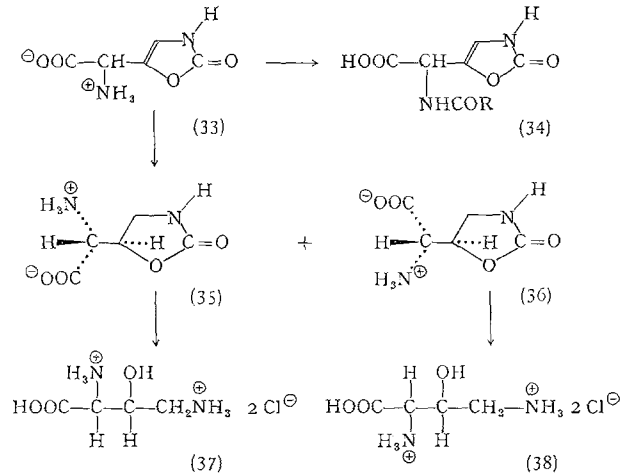


Muscazon (33), $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_4\text{N}_2$, Smp. > 190 °C (Zers.) konnte nicht aus allen Fliegenpilzarten isoliert werden. Am größten scheint der Gehalt in Herbstpilzen zu sein. Die Farbreaktionen entsprechen weitgehend denen der Ibotensäure, doch bleibt der Ninhydrinfleck länger gelb. Ihre Struktur ergab sich ebenfalls aus Spektren und chemischen Reaktionen [54] (Formelschema 5).

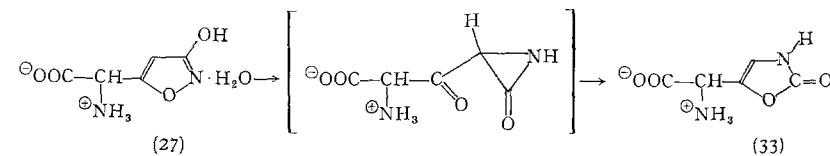
Muscazon ist, wie Ibotensäure, ebenfalls eine α -Aminocarbonsäure mit heterocyclischem Substituenten. Anstelle des Isoxazolols liegt nun ein 2(3 H)-Oxazolol vor. Zahlreiche Derivate des Muscavons ließen sich leichter als bei der Ibotensäure darstellen; N-Acylierungen verlaufen jedoch nur unter Schotten-Baumann-Bedingungen normal. Bei der katalytischen Hydrierung entsteht viel erythro-Isomeres (35) mit wenig des threo-Isomeren (36). Deren saure Hydro-

lyse, die am Muscazon selbst nicht ohne tiefgreifende Veränderung der Molekel durchgeführt werden kann, gab CO_2 und die stereoisomeren α, γ -Diamino- β -hydroxy-buttersäuren (37) und (38), die mit authentischen Präparaten [55] verglichen werden konnten.

Formelschema 5



Synthesen: sowohl Muscimol als auch Ibotensäure sind auf verschiedenen Wegen synthetisiert worden [46, 56]: Die Synthese des Muscazons aus Ibotensäure sei hier kurz geschildert: Nach neueren Arbeiten von SCHMID et al. lassen sich verschiedene heterocyclische Systeme durch UV-Belichtung ineinander umwandeln, z. B. Pyrazole in Imidazole. Dieselbe Reaktion gelingt nun auch an Isoxazolen, sowie an 3-Hydroxyisoxazolen. Wenn Ibotensäure in verdünnt wässriger Lösung mit einem Quecksilber-Niederdruckbrenner bestrahlt wird, so bildet sich Muscazon in Ausbeuten von 30–40% [57].



Wir nehmen an, daß die Reaktion mit einer Spaltung der N-O-Bindung beginnt und möglicherweise zu einem instabilen α -Lactam führt, das die notwendigen strukturellen Voraussetzungen für die Umwandlung in das 2(3 H)-Oxazolonsystem des Muscazons aufweist.

Mucazon ist physiologisch bedeutend weniger wirksam als Ibotensäure. Es spielt vermutlich bei Fliegenpilzvergiftungen, wenn überhaupt, eine nur untergeordnete Rolle. Man könnte deshalb die längst festgestellte schwankende Toxizität von Fliegenpilzen darauf zurückführen, daß in wenig wirksamen Pilzen die Ibotensäure teilweise in Muscazon umgewandelt worden ist. Dafür gibt es allerdings noch keine Beweise. Verdünnte wässrige Lösungen von Ibotensäure enthielten auch nach monatelangem Stehen am Tageslicht keine papierelektrophoretisch nachweisbaren Mengen Muscazon. Die Reaktion ließ sich auch nicht durch Zusatz des roten Hutfarbstoffgemisches sensibilisieren. Es ist daher anzunehmen, daß sich die postulierte Umwandlung im Pilz nicht-photochemisch vollzieht. Für eine Umwandlung spricht der Racemat-

charakter von Ibotensäure und Muscazon. Beide Verbindungen sind auch nach sehr, schonender Aufarbeitung, optisch inaktiv. Für Ibotensäure ist dies verständlich, da das H-Atom am chiralen Zentrum verhältnismäßig sauer ist und leicht ausgetauscht wird (langsamer H \rightarrow D-Austausch in D_2O) [58]. Ein entsprechender H-Austausch läßt sich jedoch am Muscazon nicht nachweisen. Somit kann Muscazon nicht während der Aufarbeitung racemisch geworden sein und es muß eine andere Erklärung für seinen Racematcharakter gesucht werden. Die Annahme liegt nahe, daß es aus einem racemischen Vorläufer entstanden ist. Dafür bietet sich eben Ibotensäure an.

Vorkommen von Ibotensäure und Muscimol

In frischen Fliegenpilzen schweizerischer und süddeutscher (Schwarzwald) Herkunft hatten wir durch Isolierung einen Gehalt von 0,03% festgestellt (aus 770 kg Frischpilzen der Ernte 1962 wurden beispielsweise 250 g reine umkristallisierte Ibotensäure erhalten). Da Verluste bei der Aufarbeitung und beim Umkristallisieren unvermeidlich sind, darf als Durchschnittsgehalt etwa 0,05% angegeben werden. Er schwankt aber stark. In Sommerpilzen des Jahres 1966 fanden wir bis zu 0,1% Ibotensäure! Hüte enthalten deutlich mehr als Stiele; junge Pilze anscheinend etwas weniger als vollentfaltete. In unseren Untersuchungen sind die verschiedenen Unterarten des Fliegenpilzes nicht berücksichtigt worden, sie beziehen sich mehrheitlich auf die Normalform. *Ibotensäure ist demnach ein wesentlicher Inhaltsstoff von Fliegenpilzen.*

TAKEMOTO hat aus japanischen Fliegenpilzen 0,0025% Ibotensäure durch Isolierung festgestellt. Ferner hat er sie aus *A. strobiliformis* (Vitt.) QUÉL. = *A. solitaria* (Fr.) QUÉL. und *A. pantherina* zu 0,0015% bzw. 0,021% isoliert. Bemerkenswerterweise hatten wir in eigenen Versuchen an *A. pantherina* schweizerischer Herkunft 1963 und 1964 weder Muscimol noch Ibotensäure nachweisen können, TYLER et al. [59] jedoch in *A. pantherina* aus NW-USA, hingegen nicht in *A. solitaria* und *A. strobiliformis*. Die Situation ist unübersichtlich und verdient eine genaue Untersuchung. Der Ibotensäuregehalt scheint in getrockneten Pilzen rasch abzunehmen. So stellten wir in Fliegenpilzen, die im September 1965 gesammelt (Sugadaira, Präf. Nagano, Japan) und im Vakuum getrocknet worden waren, bei der Aufarbeitung im Mai 1967 weder Ibotensäure noch Muscimol fest, hingegen war Muscarin noch gut nachweisbar. Ähnliche Erfahrungen haben TYLER et al. [59] gemacht. Nach ihren Arbeiten ist das Vorkommen von Muscimol und Ibotensäure auf wenige Spezies von *Amanita* beschränkt (s. Tabelle 3). Es ist daher ein taxonomisch wertvolles Merkmal.

Tabelle 3. Vorkommen von Muscimol (M) und Ibotensäure (I) in *Amanita*-Arten amerikanischer Herkunft [59]

<i>A. muscaria</i> (Fr.) S. F. GRAY var. <i>muscaria</i>	I + M	0,18 % ^a
<i>A. muscaria</i> var. <i>formosa</i> (Fr.) SACC.	I + M	0,17 %
<i>A. muscaria</i> var. <i>alba</i> (Peck) COKER	I + M	0,18 %
<i>A. pantherina</i> (Fr.) SECR.		0,46 %
<i>A-pantherina-gemmata</i> (Mischform)		0,28 %

^a Angaben bezogen auf getrocknetes Pilzmaterial, Gehalt ermittelt durch Schätzung aus papierchromatographischem Fleckenvergleich.

Den Versuchen darf nicht entnommen werden, daß Muscimol einen genuinen Inhaltsstoff darstellt, da sein Auftreten mindestens teilweise auf die unzureichende Wahl des Lösungsmittels (Pyridin) zurückzuführen ist.

Analytisches: Muscimol, Ibotensäure und Muscazon lassen sich papierchromatographisch und papier-elektrophoretisch durch ihre intensiv gelbe Farb-reaktion mit Ninhydrin bequem nachweisen. Grote Reagens ist sehr spezifisch, aber weniger empfindlich (s. Tabelle 4).

Die Isolierung von Muscimol aus Pilzmaterial ist nicht einfach. Eine ausführliche Beschreibung siehe [42]. Einfacher ist die Isolierung von Ibotensäure und Muscazon mit Hilfe der Ionenaustauscher-

kologischen Wirkung steht eine Hemmung motori-scher Funktionen. Es zeigen sich Behinderung, Ataxie sowie unwillkürliche Muskelzuckungen; auch stellt sich häufig Schläfrigkeit ein, ohne daß eine erhebliche Bewußtseinstörung oder ein tiefer Schlafzustand induziert wird. Im Bereich des subjektiven Erlebens führt Muscimol zu euphorischer und dysphorischer Verstimmung. Dabei lassen sich eine Verminderung der Konzentration, eine Abnahme der Disponiertheit und der Aktivität, sowie eine Erhöhung der emotionellen Spannung nachweisen. Affektive Distanz zur Umwelt, psychotische Indifferenz, Derealisations- und Depersonalisationsphänomene, sowie eine Veränderung des Zeiterlebens erinnern an die Erscheinungen der Modellpsychose. Es fehlen jedoch halluzinatorische Phänomene.

Über Selbstversuche mit Muscimol hat WASER berichtet [62]. Auch seinen Versuchen kann ebenfalls eine sehr starke Wirkung der neuen Verbindungen auf das zentrale Nervensystem entnommen werden.

Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den eingangs erwähnten Symptomen einer Fliegenpilzvergiftung und dem Gehalt an Ibotensäure (Muscimol?) ist evident. Er wird durch folgende Überlegungen und Beobachtungen verifiziert:

Tabelle 4. Analytische Eigenschaften von Muscimol, Ibotensäure und Muscazon [60]

	Muscimol	Ibotensäure	Muscazon
s-Butanol-Äthanol-Eisessig-Wasser (15:5:1:5), Whatman Nr. 1	R _f 0,34—0,36	R _f 0,16—0,20	R _f 0,06—0,10
Färbung mit Ninhydrin	gelb-violett	gelb-violett	gelb-violett
Nachweisgrenze mit Ninhydrin	0,1 µg	ca. 0,1 µg	ca. 0,1 µg
Färbung mit Grote-Reagens	blau	blau	blau
Nachweisgrenze mit Grote-Reagens	1,0 µg	1,0 µg	1,0 µg
Elektrophorese (Whatman Nr. 1, pH 1,9; 5 mA; 550 V, 2 h)	ca. 70 mm zur Kathode	ca. 15 mm zur Kathode	ca. 21 mm zur Kathode

Methode [60]. Papierchromatographie mit Roh-extrakten ist nur bei hohem Gehalt an Wirkstoffen ratsam. Bei geringem Gehalt empfiehlt sich die Anreicherung durch Chromatographie an Dowex 50 W X 12 (H⁺).

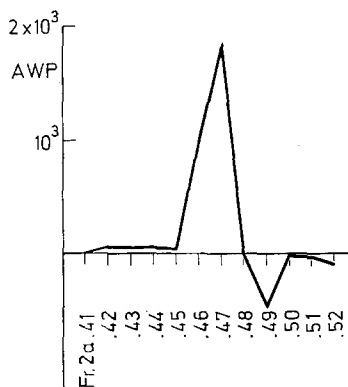


Fig. 1. Auftrennung von Wirkstoffen aus dem Fliegenpilz durch Ionenaustauscher-Chromatographie, verfolgt durch den Narkosepotenzierungstest [64]

Pharmakologische Eigenschaften von Muscimol und Ibotensäure

Pharmakologische und experimentalpsychologische Untersuchungen an Muscimol und Ibotensäure sind vor allem von THEOBALD et al. [61] durchgeführt worden. Sie haben gezeigt, daß es sich bei beiden um hochwirksame Verbindungen handelt. Sie wirken qualitativ sehr ähnlich, doch ist Muscimol in den meisten Testen 5 bis 10mal stärker wirksam. Am Menschen sind bei Gaben von 7,5 mg bis 10 mg per os Effekte subjektiver und objektiver Art ausgeprägt. Sie treten 1,5 bis 3 Std nach der Einnahme auf und können 10 und mehr Std dauern. Im Vordergrund der pharma-

a) Ein mittelgroßer Fliegenpilz mit Hutdurchmesser von 10 bis 15 cm wiegt durchschnittlich 60 bis 70 g. Er kann demnach bei dem von uns zu ca. 0,05 % bestimmten Gehalt zwischen 30 bis 35 mg Ibotensäure enthalten. Da nach Literaturangaben für einen „mäßigen“ Gebrauch 1 bis 4 Pilze verwendet wurden (5 bis 10 für einen „unmäßigen“ Gebrauch) kommt Ibotensäure (Muscimol) als Wirkstoff schon gehaltsmäßig in Frage.

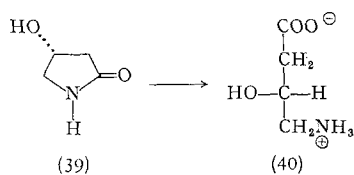
b) Getrocknete Fliegenpilze japanischer Herkunft, die nach chemischen Analysen Ibotensäure und Muscimol in nachweisbarer Menge nicht mehr enthielten, verursachten in einem Selbstversuch keine psychotrope Wirkung mehr, eine solche trat ein mit Pilzen schweizerischer Herkunft, in denen Ibotensäure und Muscimol chemisch nachgewiesen werden konnte [63].

Es ist aber nicht zu erwarten, daß die Symptome einer Fliegenpilzvergiftung denen einer Vergiftung durch die Reinstoffe Ibotensäure oder Muscimol völlig entsprechen, weil im Fliegenpilz zweifellos noch weitere, bisher unbekannte Wirkstoffe enthalten sind, und weiterhin die Resorptionsverhältnisse verschieden sein werden. Zudem ist, wie schon erwähnt wurde, der Einfluß eventuell mitgenossener, eventuell alkoholischer Getränke unklar.

5. Weitere Inhaltsstoffe des Fliegenpilzes

Den Bearbeitern des Fliegenpilzes sind im Verlauf ihrer Arbeiten weitere, in dieser Veröffentlichung noch nicht erwähnte Inhaltsstoffe in die Hände gefallen. Auf eine Aufzählung wird hier mit einer Ausnahme verzichtet. Bei dieser handelt es sich um einen neuen Wirkstoff, der zuerst von W. THEOBALD im Narkosepotenzierungstest durch seine narkoseantagonisierende Wirkung nachgewiesen wurde; vgl. Fig. 1.

Es ist der graphischen Darstellung des Ausbeute-Wirkungsproduktes (AWP) zu entnehmen, daß nach Auftreten einer starken Narkosepotenzierung eine narkoseantagonisierende Wirkung folgte. Aus solchen Fraktionen konnte kürzlich [43] (*R*)-4-Hydroxypyrrolidon-(2) (39) kristallisiert erhalten werden, (farblose Kristalle, Smp. 153,5–155 °C; $[\alpha]_D^{23}$ –44,5° (Methanol); Ninhydrinreaktion auf Papierchromatogrammen negativ; Reaktion mit Grotes Reagens violett, mit Chlor und Diphenylamin blau), und durch vorsichtige Verseifung zur (*R*)- β -Hydroxy- γ -amino-buttersäure (40) strukturell und konfiguratativ festgelegt werden. (*R*)-4-Hydroxypyrrolidon-(2) ist damit zum erstenmal in der Natur nachgewiesen worden.



Das Auftreten eines γ -Amino-buttersäure-Derivates unter den Fliegenpilzinhaltstoffen ist von großem Interesse, nicht nur in pharmakologischer Hinsicht, sondern auch im Zusammenhang mit der noch unaufgeklärten Biogenese der Ibotensäure.

Verdankungen. Der Autor hat die Arbeiten am Fliegenpilz im Herbst 1953, zunächst mit einem vom Schweizerischen Nationalfonds zugesprochenen Forschungsbeitrag und in Zusammenarbeit mit dem Pharmakologen P. G. WASER begonnen. Seit 1954 sind sie dann materiell und personell von der Firma J. R. Geigy AG, Basel, großzügig unterstützt worden. Ihr Umfang spiegelt sich im verwendeten Ausgangsmaterial: bis Herbst 1966 sind für unsere Arbeiten mehr als 6 Tonnen frische Fliegenpilze gesammelt und verarbeitet worden.

Allen am Fliegenpilzprojekt tätig gewesenen Mitarbeitern, sowie der Geschäftsleitung der Firma Geigy, sei an dieser Stelle für die erfolgreiche Zusammenarbeit der Dank ausgesprochen.

Allgemeine Literatur über den Fliegenpilz: [1] WASSON, V. P., and R. G. WASSON: Mushrooms, Russia and History. New York: Pantheon Books 1957. — [2] HEIM, R.: Les Champignons Toxiques et Hallucinogènes. Paris: Boubée 1963. — [3] RAMSBOTTOM, J.: Mushrooms and Toadstools. London: Collins 1959. — [4] GESSNER, O.: Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa. Heidelberg: Winter 1953. — [5] EUGSTER, C. H.: Über den Fliegenpilz. Neujahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich. Zürich: Leemann 1967. — [6] EUGSTER, C. H.: Über Muscarin aus Fliegenpilzen. Helv. Chim. Acta 39, 1002 (1956). — [7] EUGSTER, C. H.: The Chemistry of Muscarine. (Advances in Organic Chemistry. Vol. II.) New York: Interscience 1960. — [8] WILKINSON, S.: The History and Chemistry of Muscarine. Quart. Revs. of the Chemical Society London 15, 153 (1961).

Spezielle Literaturzitate: [9] EUGSTER, C. H.: Helv. Chim. Acta 40, 886 (1957). — [10] LIST, H. P., u. H. MÜLLER: Arch. Pharmazie 292, 777 (1959). — [11] EUGSTER, C. H., u. G. MÜLLER: Helv. Chim. Acta 42, 1189 (1959). — [12] MALONE, M. H., et al.: Lloydia 24, 204 (1961). — [13] MALONE, M. H., et al.: ibid. 25, 231 (1962). — [14] HUGHES, D. W., K. GENEST u. W. B. RICE: ibid. 29, 328 (1966). — [15] SWENBERG, M.-L. L., W. J. KELLEHER u. A. E. SCHWARTING: Science 155, 1259 (1967). — [16] ISHIDA, Y., u. Y. TAKATSU: J. Appl. Mycology (Japan) 3, 118 (1949). — [17] Vgl. die Zusammenstellung in [6]. — [18] Unpublizierte Versuche von C. H. EUGSTER 1963 und 1964. — [19] Zur Pharmakologie von Muscarin- und muscarinähnlichen Verbindungen vgl. WASER, P. G.: Pharmacol. Rev. 13, 465 (1961); Experientia 17, 300 (1961); GYERMEK, L., and K. R. UNNA: Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 98, 882 (1958); J. Pharmacol. and exptl. Therapeutics 128, 37 (1960). — [20] HARDEGGER, E., u. F. LOHSE: Helv. chim. Acta 40, 2383 (1957). — [21] HARDEGGER, E., H. FURTER u. J. KISS: ibid. 41, 2401 (1958). — [22] EUGSTER, C. H.: ibid. 40, 2462 (1957); EUGSTER, C. H., et al.: ibid. 41, 205, 583, 705, 886 (1958). — [23] MEISTER, H.:

Liebigs Ann. Chem. 701, 174 (1967); Zeitschr. f. Naturforsch. 19b, 771 (1964). — [24] GUSEV, B. P., I. I. NAZAROVA u. V. F. KUCEROV: Isvest. Akad. Nauk SSSR 1966, 566. — [25] HARDEGGER, E., H. CORRODI u. N. CHARIATTE: Helv. Chim. Acta 44, 1193 (1961). — [26] HARDEGGER, E., u. N. HALDER: ibid. 50, 1275 (1967). — [27] ICHIHARA, A., T. YAMANAKA u. T. MATSUMOTO: Bull. Chem. Soc. Japan 38, 1165 (1965); MAEKAWA, H., A. ICHIHARA u. T. MATSUMOTO: ibid. 38, 1161 (1965). — [28] KÖGL, F., H. C. COX u. C. A. SALEMINK: Liebigs Ann. Chem. 608, 81 (1957). — [29] EUGSTER, C. H., u. P. G. WASER: Experientia 10, 298 (1954); EUGSTER, C. H.: Helv. Chim. Acta 39, 1002 (1956). — [30] KUEHL, F. A., N. LEBEL u. J. W. RICHTER: J. Amer. Chem. Soc. 77, 6663 (1955). — [31] BALENOVIĆ, K., and Z. ŠTEFANAC: Chim. et Ind. 1956, 23; BALENOVIĆ, K., et al.: Arhiv za Kemiju 27, 107 (1955). — [32] KÖGL, F., et al.: Rec. trav. chim. Pays-Bas 76, 109 (1957). — [33] KÖGL, F., C. A. SALEMINK u. P. L. SCHULLER: Rec. trav. Chim. Pays-Bas 79, 279, 485 (1960). — [34] SCHULLER, P. L., u. C. A. SALEMINK: Planta medica 10, 327 (1962). — [35] SALEMINK, C. A., u. P. L. SCHULLER: Rec. trav. chim. Pays-Bas 82, 21 (1963). — [36] KWASNIEWSKI, V.: Süddeutsch. Apotheker Z. 94, 1177 (1954). — [37] LEWIS, B.: South African med. J. 29, 262 (1955). — [38] MANIKOWSKI, W., u. L. NIEZGODZKI: Poznan. Towarz. Przyjacieli Nauk, Wydział Lekar. Prace Komisji Farm. 1, 49 (1962); ref. Chem. Abstr. 58, 11703 (1963). — [39] SALEMINK, C. A., et al.: Planta medica 11, 139 (1963). — [40] WIELAND, Th., W. MOTZEL u. H. MERZ: Liebigs Ann. Chem. 581, 10 (1953). — [41] CATALFOMO, P., u. V. E. TYLER: J. Pharm. Sciences 50, 689 (1961); TYLER, V. E.: Lloydia 24, 71 (1961); TYLER, V. E., u. D. GRÖGER: Planta medica 12, 397 (1964). — [42] EUGSTER, C. H., u. G. F. R. MÜLLER (1960); vgl. MÜLLER, G. F. R.: Beiträge zur Kenntnis der Inhaltsstoffe des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria*). Dissertation Universität Zürich 1961; vgl. EUGSTER, C. H., G. F. R. MÜLLER u. R. GOOD: Tetrahedron Letters 1965, 1813; MÜLLER, G. F., u. C. H. EUGSTER: Helv. Chim. Acta 48, 910 (1965); GOOD, R., G. F. R. MÜLLER u. C. H. EUGSTER: ibid. 48, 927 (1965). — [43] EUGSTER, C. H., u. W. TRUEB: Helv. Chim. Acta 51 (im Druck). — [44] EUGSTER, C. H., u. G. F. R. MÜLLER (1958); vgl. MÜLLER, G. F. R.: Diplomarbeit Bonn 1958. — [45] TAKEMOTO, T., T. NAKAJIMA u. R. SAKUMA: Yakugaku Zasshi 84, 1233 (1964); TAKEMOTO, T., T. NAKAJIMA u. T. YOKOBE: ibid. 84, 1232 (1964); TAKEMOTO, T., T. YOKOBE u. T. NAKAJIMA: ibid. 84, 1186 (1964). — [46] (a) Belg. Pat. Nr. 656759 vom 7. 12. 1964; Schweiz. Priorität vom 6. 12. 1963, vgl. Chem. Abstr. 63, 16356 (1965); GAGNEUX, A. R., F. HÄFLIGER, R. GOOD u. C. H. EUGSTER: Tetrahedron Letters 1965, 2077. — (b) Belg. Pat. Nr. 665249 vom 10. 12. 1965; Schweiz. Priorität vom 22. 7. 1964; vgl. Chem. Abstr. 65, 2266 (1966); GAGNEUX, A. R., F. HÄFLIGER, R. MEIER u. C. H. EUGSTER: Tetrahedron Letters 1965, 2081. — [47] BOWDEN, K., u. A. C. DRYSDALE: Tetrahedron Letters 1965, 727; BOWDEN, K., A. C. DRYSDALE u. G. A. MOGEY: Nature 206, 1359 (1965). — [48] ONDA, M., H. FUKUSHIMA u. M. AKAGAWA: Chem. Pharm. Bull. Japan 12, 751 (1964). — [49] Briefl. Mitteilungen vom 7. 9. 1965; 12. 11. 1965; 17. 1. 1966. — [50] EUGSTER, C. H., u. T. TAKEMOTO: Helv. Chim. Acta 50, 126 (1967). — [51] Mitteilung von H. GYSIN u. R. GASSER: J. R. Geigy AG, Basel, 27. 7. 1965. — [52] Die beschriebenen Reaktionen sind eigene, noch nicht veröffentlichte Beobachtungen; sie entsprechen teilweise den von TAKEMOTO veröffentlichten Resultaten. — [53] TAKEMOTO, T., u. T. NAKAJIMA: Yakugaku Zasshi 84, 1183 (1964). — [54] FRITZ, H., A. R. GAGNEUX, R. ZHINDEN u. C. H. EUGSTER: Tetrahedron Letters 1965, 2075; REINER, R., u. C. H. EUGSTER: Helv. 50, 128 (1967); REINER, R.: Dissertation Universität Zürich (1966). — [55] SICHER, J., et al.: Coll. Czech. Chem. Comm. 24, 3719 (1959). — [56] KISHIDA, Y., et al.: Chem. Pharm. Bull. (Japan) 14, 92 (1966); 15, 1025 (1967); SIRAKAWA, K., et al.: ibid. 14, 89 (1966). — [57] GÖTH, H., A. R. GAGNEUX, C. H. EUGSTER u. H. SCHMID: Helv. Chim. Acta 50, 137 (1967). — [58] Beobachtung von H. FRITZ, Basel. — [59] BENEDICT, R. G., V. E. TYLER, and L. R. BRADY: Lloydia 29, 333 (1966). — [60] GOOD, R., G. F. R. MÜLLER u. C. H. EUGSTER: Helv. Chim. Acta 48, 927 (1965). — [61] THEOBALD, W., et al.: Arzneimittelforschung 18, 311 (1968). — [62] The Pharmacology of *Amanita Muscaria*, in: Ethnopharmacological Search for Psychoactive Drugs. Ed. by D. H. EFRON, Bo HOLMSTEDT u. N. S. KLINE; US. Dept. of Health, Education, and Welfare, Public Health Service Publication No. 1645, Washington D. C. 1967. — [63] WASSON, R. GORDON, u. C. H. EUGSTER: 1967 (unveröffentl.). — [64] MÜLLER, G. F. R., u. C. H. EUGSTER: Helv. Chim. Acta 48, 910 (1965).

Eingegangen am 16. März 1968