

Über die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes

13. Mitteilung. Phalloin, ein weiteres Toxin

Von Prof. Dr. THEODOR WIELAND und  
Dipl.-Chem. K. MANNES

Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt/M.

Die im Laboratorium von Heinrich Wieland in München 1932 begonnene Erforschung der Gifte des grünen Knollenblätterpilzes (*Amanita phalloides*) hat dort das rasch wirkende Phalloidin<sup>1)</sup> und das noch wesentlich giftigere, aber langsamer zum Tode führende Amanitin<sup>2)</sup> in kristallisierter Form geliefert. Dieses erwies sich später als gemeinsames Kristallisat zweier sehr ähnlicher Komponenten, dem neutralen  $\alpha$ - und dem sauren  $\beta$ -Amanitin<sup>3)</sup>, die beide ammoniakalische Silber-Lösung in der Kälte reduzieren. Vor kurzem wurde als vierte giftige Substanz eine weitere reduzierende Verbindung,  $\gamma$ -Amanitin isoliert<sup>4)</sup>.

Bei der chromatographischen Trennung des angereicherten Giftgemisches (Primärmaterial) der Pilzernte 1955 an neutralem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in wassergesättigtem n-Butanol, dem 10 Vol % Äthanol zugesetzt waren, wurde ein in geringer Menge vorhandener, rascher als Phalloidin wandernder Inhaltsstoff in so reiner Form gewonnen, daß die sofortige Kristallisation aus Wasser gelang. Die in langen feinen Nadeln anfallende Verbindung zersetzt sich unter Schwarzfärbung von 250–280 °C an. Sie besitzt höhere Toxizität als Phalloidin und ist wie dieses ein rasch wirkender Giftstoff. So sterben 20 g schwere weiße Mäuse nach subcutaner Injektion von 50  $\gamma$  bereits nach 6 h, die  $\text{DL}_{50}$  beträgt für die nach ca. 7 Tagen zum Tode führende Menge 20–30  $\gamma$ . Wir bezeichnen die neue Verbindung als Phalloin.

Phalloin ist wie alle Amanitatoxine ein Peptid, das keine Ninhydrin-Reaktion zeigt und bei der Papierelektrophorese weder im sauren, noch im alkalischen wandert, also cyclisch gebaut sein muß. Sein  $R_f$ -Wert im Papierchromatogramm beträgt in einem Gemisch von Methyl-äthylketon-Aceton-Wasser (20:2:5) 0,6 bis 0,65, wodurch es sich als lipophiler als Phalloidin ( $R_f = 0,50$ ) erweist. Dementsprechend ist es in Methanol sehr viel leichter löslich als Phalloidin und läßt sich aus diesem Lösungsmittel nicht kristallisieren. In seinen Farbreaktionen entspricht es völlig dem Phalloidin, ebenso im UV-Spektrum (Bild 1), das von dem des

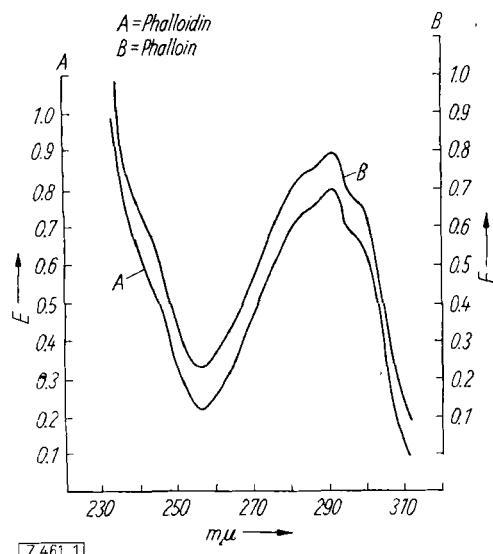


Bild 1  
UV-Spektrum von Phalloidin und Phalloin

einen Hauptgifts nicht zu unterscheiden ist. Eine spektrophotometrische Molekulargewichtsbestimmung<sup>5)</sup>, berechnet unter der Annahme gleicher molarer Extinktionskoeffizienten von Phalloidin und Phalloin, ergibt für dieses ein Molgewicht von  $730 \pm 4\%$  (Phalloidin + 6  $\text{H}_2\text{O}$  878).

Die äußerst große Ähnlichkeit des altbekannten mit dem neuen Giftstoff erstreckt sich auch auf die Aminosäure-Zusammensetzung. Im 2-dimensionalen Papierchromatogramm des Phal-

<sup>1)</sup> F. Lynen u. U. Wieland, Liebigs Ann. Chem. 533, 93 [1937].

<sup>2)</sup> H. Wieland u. R. Hallermayer, ebenda 548, 1 [1941].

<sup>3)</sup> Th. Wieland, L. Wirth u. E. Fischer, ebenda 564, 152 [1949].

<sup>4)</sup> Th. Wieland u. Ch. Dudensing, ebenda 600, 156 [1956].

<sup>5)</sup> Th. Wieland u. W. Schön, ebenda 593, 157 [1955].

loinhydrolysats erschienen ebenfalls Alanin, Threonin, Cystein, allo(?)-Hydroxyprolin und Oxindolylalanin. Die Intensität des Alanin-Flecks ist hierbei aber wesentlich vermindert, so daß man an die Anwesenheit von nur einer Alanin-Moleköl pro Mol denken muß, während Phalloidin davon 2 Mole enthält. Dieses Defizit, zusammen mit einem vermutlichen Mindergehalt von Kristallwasser in der lipophilen Substanz kann das niedrigere Molgewicht erklären. Außer den genannten Aminosäuren enthält das  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Hydrolysat noch ein bei der Elektrophorese zur Kathode wanderndes Ninhydrin-positives Aminolacton, das aber wegen seiner etwas rascheren Wanderung vom analogen Baustein des Phalloidins<sup>5)</sup> verschieden sein muß.

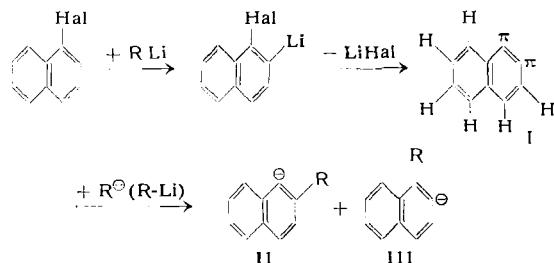
Die gemeinsamen Voraussetzungen für die Gifigkeit: cyclische Natur und Gehalt an verkapptem Cystein-Schwefel und einer lactonisierenden Aminosäure, sind also auch bei dem fünften Inhaltsstoff des Giftpilzes gegeben.

Eingegangen am 23. April 1957 [Z 461]

Addition von Basen an 1,2-Naphthrin

Von Prof. Dr. R. HUISGEN und Dipl.-Chem. L. ZIRNGIBL  
Institut für Organische Chemie der Universität München

Die Produkte der Reaktionen des 1- und 2-Fluor-naphthalins sowie des o- und m-Fluor-anisols mit Phenyl-lithium zwangen zur Annahme, daß sich an die primäre Metallierung der Fluor-Aromaten eine Eliminierung zum Arin als bindungssymmetrische Zwischenstufe anschließt<sup>1)</sup>. Bei der nachfolgenden nucleophilen Addition des Phenyl-lithiums etwa an das aus Fluor-naphthalin hervorgehende 1,2-Naphthrin entstehen isomere metallorganische Verbindungen, im folgenden Formelschema mit den Anionen II und III ( $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ ) symbolisiert. Bei der Hydrolyse erhält man das Gemisch der Phenyl-naphthaline, bei der Carboxylierung das der Phenyl-naphthoësäuren; die Analyse zeigt, daß die Anionen II und III im Verhältnis 63:37 % auftreten.



Die Reaktionen des 1-Fluor-naphthalins mit n-Butyl-lithium sowie tert. Butyl-lithium in Äther verlaufen nicht nur nach gleichem Schema, sondern ergeben auch praktisch das gleiche Verhältnis an den II und III entsprechenden Anionen. Im ersten Fall führte die Carboxylierung zum Gemisch der 1-n-Butyl-naphthoësäure-(2) und der 2-n-Butyl-naphthoësäure-(1); im zweiten wurde nach der Hydrolyse der Gehalt an 1- und 2-tert. Butyl-naphthalin IR-spektrophotometrisch bestimmt. Der recht unterschiedliche Raumbedarf des Carbanions im Phenyl-, n-Butyl- und tert. Butyl-lithium hat somit keinen Einfluß auf das Verhältnis der Anlagerung an die Positionen 1 und 2 des 1,2-Naphth-ins (I); die Erfahrungen am Naphthalin-System weisen auf eine gewisse Abschirmung der Stellung 1 durch den peri-Wasserstoff hin.

Da auch beim Umsatz der Aryl-halogenide mit Alkali-amiden die Zwischenstufe des Arins passiert wird<sup>2)</sup>, lag es nahe, auch das Verhältnis der Amid-Addition an die Positionen 1 und 2 von I zu untersuchen. Aus bestimmten Gründen<sup>3)</sup> wurde dabei das 1-Chlor-naphthalin der Einwirkung der Li-Salze sekundärer Amine in ätherischer Lösung unterworfen. Die Übereinstimmung in der Zusammensetzung der aus 1- und 2-Chlor-naphthalin erhaltenen Naphthyl-Basen-Gemische beweist den vollständigen Ablauf über I. Mit Lithium-diäthylamid in Gegenwart von überschüssigem sek. Amin entsteht beispielsweise 95 % d.Th. am Gemisch der Diäthylamino-naphthaline mit dem 1- und 2-Isomeren im Verhältnis 38:62. Aus der Tabelle (s. S. 390) geht die erstaunliche Unabhängigkeit des Verhältnisses von II:III von den sterischen und elektronischen Eigenschaften des Anions in R—Li hervor. Man muß

<sup>1)</sup> R. Huisgen u. H. Rist, Naturwissenschaften 41, 358 [1954]; Liebigs Ann. Chem. 594, 137 [1955].

<sup>2)</sup> J. D. Roberts, H. E. Simmons, L. A. Carlsmith u. C. W. Vaughan, J. Amer. chem. Soc. 75, 3290 [1953].

<sup>3)</sup> Vgl. nachfolgende Zuschrift.