

79. Stereomere Muscarine kommen in der Natur vor. Gas-chromatographische Trennung der Norbasen

30. Mitteilung über Inhaltsstoffe von Fliegenpilzen¹⁾

von C. H. Eugster und E. Schleusener

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Rämistr. 76, 8001 Zürich

(20. II. 69)

Zusammenfassung. Im Fliegenpilz (*Amanita muscaria* (L. ex FRIES) HOOKER) kommen neben Muscarin auch allo-Muscarin, epi-Muscarin und wahrscheinlich sogar epiallo-Muscarin in geringer Menge vor. Dasselbe trifft für gewisse *Inocybe*-Arten zu (*J. patouillardii*, *fastigiata*, *rimosa* s. *cookei*), in denen auch epiallo-Muscarin aufgefunden werden konnte. Es ist möglich, dass in einzelnen *Inocybe*-Arten Muscarin nicht das vorherrschende Isomere ist. Alle bisher zur Isolierung von Muscarin verwendeten Isolierungsverfahren sind zur Erkennung der Stereomeren ungeeignet. Wahrscheinlich haben sie auch zum Verlust einzelner Isomere geführt.

Der analytische Nachweis gelingt durch Pyrolyse der quaternären Chloride im Vakuum bei 200–240° und anschliessende gas-chromatographische Trennung der Norbasen an einer geeigneten Kapillarkolonne.

Unsere neuen Ergebnisse machen eine Überprüfung der bisherigen Untersuchungen an allen muscarinführenden Pilzen notwendig.

Von den acht stereomeren Muscarinen ist bis heute erst (+) (2*S*, 3*R*, 5*S*)-Muscarin (I) in der Natur aufgefunden worden²⁾. Wir haben kürzlich die Vermutung geäußert [2], dass der Antipode, oder eines der stereomeren Muscarine, falls sie als Gemische mit Muscarin auftraten, mit den bisher verwendeten Isolierungs- und Identifikationsmethoden gar nicht erkannt werden könnten. Tatsächlich ergibt eine kritische Überprüfung, dass keine einzige davon geeignet ist, Beimengungen stereomerer Muscarine festzustellen³⁾.

Verschiedene experimentelle Beobachtungen, z. B. die Tatsache, dass zur Isolierung von reinem natürlichem Muscarinchlorid je nach Herkunft verschieden intensive Reinigungsverfahren notwendig sind⁴⁾, bestärkten unsere Vermutung, dass (+)-Muscarin gelegentlich von Stoffen mit sehr ähnlichen physikalischen Eigenschaften begleitet ist. Zu solchen zählen in erster Linie natürlich die Stereomeren.

¹⁾ Als vorangehende Mitteilungen dieser Reihe sollen gelten: 29. Mitteilung: [1]; 28. Mitt.: [2]; 27. Mitt.: [3]; 26. Mitt.: [4]; 25. Mitt.: [5].

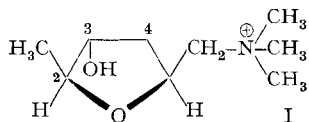
²⁾ Eine Zusammenfassung der bisher gewonnenen Ergebnisse wird in [1], [2], [4] gegeben.

³⁾ Dies gilt nicht nur für die pharmakologischen Testverfahren, sondern auch für alle bisher publizierten chromatographischen Systeme, einschliesslich des für die Trennung der Stereomeren angeblich geeigneten Gemisches von Cox *et al.* [6]. Die in dieser Arbeit neben Muscarin aufgefundenen Flecke, welche als von Stereomeren herrührend betrachtet wurden, dürften sich allem Anschein nach auf Nebenprodukte anderer Struktur beziehen.

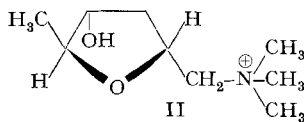
⁴⁾ Reines kristallisiertes (+)-Muscarin ist bis heute nur von wenigen Autoren gewonnen worden. Die Reinigung verlangt nach aufwendigen Anreicherungsverfahren wiederholte Umkristallisation geeigneter Salze. Die besten Dienste dazu leistet das (allerdings sehr hygroskopische) Chlorid; Tetraphenylboranat und Reinekat sind zur Abtrennung von Verunreinigungen mit ähnlichen Eigenschaften kaum geeignet.

Ziel dieser Untersuchung war, diese Vermutung mit geeigneten Methoden nachzuprüfen. Das ist nun, wie nachstehend gezeigt werden kann, bei *Amanita muscaria* (L. ex Fr.) HOOKER sowie bei den drei ebenfalls untersuchten *Inocybe*-Arten (*I. patouillardii* BRES.⁵⁾, *I. fastigiata* (SCHFF. ex Fr.) QUÉL., *I. rimosa* BU.⁶⁾ s. *I. cookei* BRES.⁷⁾) gelungen.

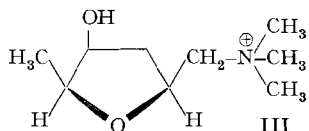
Formelschema



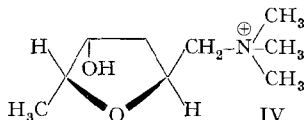
(+)-(2S,3R,5S)-Muscarin



(2S,3R,5R)-allo-Muscarin



(2S,3S,5S)-epi-Muscarin



(2R,3R,5S)-epiallo-Muscarin

Zum sicheren Nachweis von geringen Beimengungen stereomerer Muscarine, der auch mit kleinen Substanzproben reproduzierbar arbeiten soll, kommen nur ganz wenige Verfahren in Frage. Nach Vorversuchen mit Massenspektren⁸⁾ arbeiteten wir ein gas-chromatographisches Verfahren an den *Norbasen* aus⁹⁾. Diese können, wie wir früher gezeigt haben [8] [9], durch Pyrolyse der Methochloride im Vakuum bei 200–240° ohne Schwierigkeiten erhalten werden. Analytisch-gas-chromatographische Trennungen wurden anschliessend an einer 16 m langen Glaskapillarkolonnen, Durchmesser 0,35 mm, mit Emulphor-O/KOH-Belegung durchgeführt¹⁰⁾. Die Trennung der isomeren Norbasen ist ausgezeichnet, siehe Fig. 1.

Die erzielten Ergebnisse sind in nachstehender *Tabelle* zusammengefasst. Proben Nr. 1–12 betreffen Muscarinpräparate natürlicher Abstammung, Proben Nr. 13–21 beziehen sich auf synthetische Muscarine. Wir bemerken dazu folgendes:

1) Pyrolysen an den reinen Isomeren verlaufen ohne nachweisbare Isomerisation (Proben Nr. 16–21). Wir schliessen daraus, dass das verwendete Verfahren zum Nachweis von Gemischen brauchbar ist.

2) Die Isolierungsverfahren, welche zur Gewinnung der natürlichen Muscarine benutzt worden sind, haben offensichtlich ebenfalls zu keiner nachweisbaren Änderung der Konfiguration geführt; denn die Liste umfasst Präparate, welche auf verschiedenen Wegen hergestellt worden sind. Auch die von uns mehrfach angewendete Perko-

⁵⁾ Von einigen Autoren auch als *I. patouillardii* bezeichnet.

⁶⁾ Nach A. RICKEN, Die Blätterpilze, Leipzig 1915.

⁷⁾ Nach M. MOSER, Blätter und Bauchpilze, Stuttgart 1955.

⁸⁾ Wir danken Herrn PD. Dr. M. HESSE für Aufnahmen von Massenspektren an stereomeren Muscarinen.

⁹⁾ Gas-chromatographische Trennungen der stereoisomeren Norbasen hatten wir bereits 1958 durchgeführt, vgl. [7].

¹⁰⁾ Herrn Prof. K. GROB danken wir für Herstellung und lebenswürdige Überlassung dieser Kapillarkolonnen.

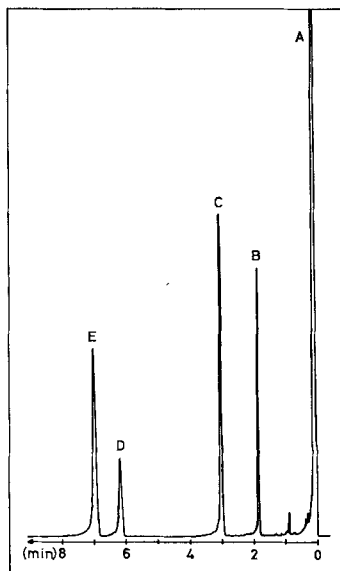


Fig. 1. Gas-chromatographische Trennung von 18,4% epi- (B), 30,5% allo- (C), 14,5% epiallo- (D) und 36,6% Normuscarin (E), (A = Äther)

lation von Muscarinkonzentraten durch stark basische Ionenaustauscher, die zur Reinigung ausgezeichnete Dienste leistet, erzeugt keine Inversion an C-2¹¹) (Proben Nr. 17, 18).

3) An Substanzproben standen für diese Untersuchung noch verschiedene ältere Muscarinpräparate natürlicher und synthetischer Herkunft zur Verfügung, die in unseren früheren Publikationen beschrieben worden sind. Die Ergebnisse der gas-chromatographischen Untersuchung belegen erneut die Reinheit unserer damaligen Präparate (z.B. Proben Nr. 1, 2, 19, 20, 21), *vor allem auch diejenige des allo-Muscarins*¹²).

Probe Nr. 3 ist eine Substanz aus der Mutterlauge von Nr. 2, die durch Umkristallisation des Chlorides erhalten worden war. Sie enthält, wie mehrere Pyrolyseversuche ergeben haben, 17% *allo*-Muscarin¹³). Dieses Ergebnis liess sich zusätzlich durch Aufnahme des NMR.-Spektrums bestätigen, siehe Fig. 2¹⁴). Leider liegen die Resonanzpositionen der Methylsignale bei allen stereomeren Muscarinen derart nahe, dass sie zur Untersuchung nicht herangezogen werden können. Hingegen eignen sich dazu bei

¹¹) Mit einem hypothetischen Ylid-Mechanismus könnte aus Muscarin eventuell *allo*-Muscarin entstehen.

¹²) Die Eigenschaften der in der Literatur beschriebenen *allo*-Muscarinpräparate [16] [18] [19] schwanken stark. Es scheint heute Einigkeit darüber zu bestehen [20] [21], dass das von uns erstmals beschriebene Präparat [16] reines *allo*-Muscarin darstellte und dass die anderen entweder unrein [19] oder überhaupt nicht *allo*-Muscarin waren [18]. Auf die Natur ihres früher beschriebenen «*allo*»-Präparates sind HARDEGGER *et al.* in ihrer letzten Publikation [21] nicht eingetreten.

¹³) Prozentangaben beziehen sich auf die Summe der vorhandenen Normuscarin-Stereomeren = 100%; Gehaltsangaben von Verunreinigungen beziehen sich auf die Summe der Normuscarin-isomeren.

¹⁴) Protonenresonanzstudien der Konfiguration und Konformation aller stereomeren Muscarine sind in unserem Institut von W.v. PHILIPSBORN & G. HANSEN gemacht worden; vgl. [22].

Zusammenstellung der gas-chromatographischen Resultate der Trennung von isomeren Muscarin-Norbasen

Nr. der Probe	Herkunft des Präparates	% - Gehalt an Norbasen				Identifizierung durch Zumischung von
		<i>epi</i>	<i>allo</i>	<i>epiallo</i>	muscarin	
1 ^{a)}	<i>Amanita muscaria</i>	–	< 0,1	–	> 99,9	<i>allo</i>
2 ^{b)}	<i>Amanita muscaria</i>	–	0,4	–	99,6	
3 ^{c)}	<i>Amanita muscaria</i>	< 0,1	17	–	83,5	<i>epi, epiallo</i>
4 ^{d)}	<i>Amanita muscaria</i>	–	ca. 1	–	ca. 99	<i>allo, epiallo</i>
5 ^{e)}	<i>Amanita muscaria</i>	–	22	–	78	
6 ^{f)}	<i>Amanita muscaria</i>	–	0,9	–	99,1	<i>allo</i>
7 ^{g)}	<i>Amanita muscaria</i>	0,3	10,0	?	ca. 89,7	<i>epi, allo</i>
	<i>Amanita muscaria</i>	0,1	3,6	?	96,3	
8 ^{h)}	<i>Amanita muscaria</i>	Spur	2–2,5	–	97,5–98	
9 ⁱ⁾	<i>Inocybe patouillardii</i>	–	3,4	0,8	95,8	<i>allo, epiallo</i>
10 ^{j)}	<i>Inocybe fastigiata</i>	–	0,2–0,3	–	99,7–99,8	<i>allo</i>
11 ^{k)}	<i>Inocybe rimosa</i> s. <i>I. cookei</i>	12,5	8,0	14,8	64,7	<i>allo, epiallo</i>
12 ^{k)}	<i>Inocybe rimosa</i> s. <i>I. cookei</i>	?	15,0	54,0	31,0	
13 ^{l)}	Synthese	26,8	39,5	6,5	27,2	
14 ^{m)}	Synthese	0,3	3,4	–	96,3	<i>allo, epiallo</i>
15 ^{m)}	Synthese	0,7	1,3	9,0	89,0	<i>allo, epiallo</i>
16 ^{m)}	Synthese	–	–	97,5	2,5	normuscarin
17 ⁿ⁾	Synthese	–	< 0,1	5,5	94,5	<i>epiallo, allo</i>
18 ⁿ⁾	Synthese	–	< 0,1	5,7	94,3	<i>epiallo, allo</i>
19 ^{o)}	Synthese	100	–	–	–	
20 ^{p)}	Synthese	–	100	–	–	
21 ^{q)}	Synthese	–	–	100	–	

- ^{a)} Präparat vom 29. 8. 1955, aus Ernte 1954 stammend, über das Tetrachloraurat gereinigt, Chlorid umkristallisiert aus Isopropanol/Aceton, vgl. [10]; seither als kristallisiertes Chlorid aufbewahrt.
- ^{b)} Aus 1,840 g umkristallisiertem Muscarintetrachloraurat, von verschiedenen Aufarbeitungen herrührend, am 24. 6. 64 mit H₂S zerlegt, Chlorid aus Isopropanol-Aceton-Äther umkristallisiert; Fr. I: 0,573 g. Das Tetrachloraurat hat also, unter Berücksichtigung des Resultates von 3), 3,7% *allo*-Muscarin enthalten.
- ^{c)} Mutterlauge von Probe Nr. 2, 135 mg, kristallisiert, etwas bräunlich gefärbt. Resultat von mehreren Pyrolyseversuchen ist wiedergegeben. Unbekannte Begleitsubstanz ca. 2% (Summe der Muscarinisomeren = 100%).
- ^{d)} Aus abgezogenen roten Häuten stammend, vgl. [11]; Rohchloride sind damals mit Amberlite IRA 400 (OH[−]) behandelt worden, als umkristallisiertes Tetrachloraurat, Smp. 113–116°, aufbewahrt. Enthält < 3% unbekannte Begleitsubstanz.
- ^{e)} Tetrachloraurat aus Mutterlaugen (15. 6. 1959), aus verschiedenen Muscarinfraktionen hergestellt, die ganz verschiedenen Aufarbeitungsgängen entstammen. Unbekannte Begleitsubstanz ca. 5%.
- ^{f)} Vom 2. 11. 1966, aus Ernte 1966 stammend, bei der Isolierung der Ibotsäure durch Chromatographie an Dowex 1 X 10 Cl[−], pH 7–8, angefallen; Umkristallisiert als Tetrachloraurat. Unbekannte Substanzen > 2%.
- ^{g)} Pilzernte 1967; die Muscarinfraktion wurde aus 40 kg Frischpilzen möglichst schonend hergestellt: Extraktion mit 95-proz. Äthanol wie üblich; Konzentrate durch Einrühren in Isopropanol von Ballaststoffen befreit (2malige Wiederholung). Die isopropanollöslichen Stoffe nach Eindampfen in Wasser aufgenommen und mit Äther entfettet. Nach Behandlung mit Norit erneut zum Sirup eingedampft, diesen nach Aufsaugen in Alox neutral auf Aloxsäule gebracht (1 kg/100 g) und mit Aceton-Methanol (4:1) fraktioniert eluiert. Die muscarinhaltigen Fraktionen erneut an einer Cellulosesäule analog [10] chromatographiert (Lösgr. 14). Erhaltene

muscarinhaltige Fraktion hierauf nochmals an Alox neutral (Aceton-Methanol 4:1) chromatographiert. Das Konzentrat in Wasser mit Silberchlorid-Suspension geschüttelt und nach Filtration eingedampft. Semikristalliner Rückstand. Pyrolyseresultate siehe obere Zahlenwerte. Weitere Reinigung mittels Perkolation durch Amberlite IRA 400 OH[⊖] und Fällung als Reineckat. Daraus hergestellte Chloride für Pyrolyseversuche; siehe untere Zahlenwerte.

- b) Tetrachloraurat vom 24. 4. 1959 aus Mutterlaugen, Smp. 106–109°. Unbekannte Verunreinigung ca. 5%.
- i) Fr. II des in [12] beschriebenen Tetrachloraurates; Smp. 116–118°, Sintern ab 110°, vom 28. 8. 1956.
- j) Es handelt sich um das in [11] beschriebene Tetrachloraurat, Smp. 112,5–114°, vom 12. 9. 1958.
- k) Unveröffentlichte Bearbeitung von *I. rimosa* BU. s. *I. cookei* BRES. Aufarbeitung wie in [12] beschrieben: aus 3,5 kg Frischpilzen wurden 4,4 g Reineckate und daraus 1,26 g Rohchloride gewonnen. Trennung erfolgte an Cellulosesäulen mit Butanol-NH₃-H₂O. Die «Muscarinfraktion» entspricht Probe Nr. 11; unbekannte Verunreinigung ca. 40%. Die anschliessende «Muscarin-Cholin-Mischfraktion» wurde an einer neuen Cellulosesäule mit *sek.*-Butanol-Äthanol-Eisessig-H₂O weiter aufgetrennt; → «Muscarinfraktion II», entspricht der Probe Nr. 12. Aus Substanzmangel konnte bei Nr. 12 nur noch ein einziges Gas-Chromatogramm ausgeführt werden.
- l) Norbasengemisch aus einer KBH₄-Reduktion an 5-Dimethylaminomethyl-2-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on nach [13].
- m) Quaternäres Chlorid aus früheren Versuchen, die Methochloride aus dem Norbasengemisch durch Verteilungschromatographie an einer grossen Cellulosesäule zu trennen; Probe Nr. 14 ist Fr. 2 aus dieser Trennung, nicht umkristallisiert; Probe Nr. 15 ist Fr. 3, umkristallisiert aus Isopropanol-Aceton, Smp. des Chlorids 124–126°, Sintern ab 120°; Probe Nr. 16 ist Fr. 4 dieser Trennung (geringste Substanzmenge), umkristallisiert aus Isopropanol-Aceton, Smp. 129–138°. Verunreinigungen pro Fraktion 2 bis 5%.
- n) Probe Nr. 17 wurde aus einer Normuscarinfraktion hergestellt, die durch Destillation des Norbasengemisches an einer Drehbandkolonne (Fr. 8, Sdp. 115–116°/6 Torr nach [14]) sowie durch Umkristallisation des Methojodides aus Äthanol-Äther gereinigt worden war. Unbekannte Verunreinigungen < 1%. Für Probe Nr. 18 wurde das Methojodid Nr. 17 durch Amberlite IRA 400 (OH[⊖]) perkoliert, die Ammoniumbase mit HCl neutralisiert, eingedampft und der Rückstand im Vakuum pyrolysiert.
- o) Rest des 1959 zur pK-Bestimmung [9] durch Pyrolyse an *epi*-Muscarinchlorid [15] gewonnenen Präparates. Die Norbase war als solche aufbewahrt worden.
- p) Rest der 1959 zur pK-Bestimmung [9] durch Pyrolyse an *allo*-Muscarinchlorid [16] gewonnenen Probe. Die Norbase war als solche aufbewahrt worden.
- q) *epiallo*-Muscarinjodid, Mutterlaugenpräparat [17]; enthält ca. 5% einer unbekannten Verunreinigung.

genügender Verstärkung die stark aufgespaltenen Signale der Ringprotonen. Das Spektrum der Probe Nr. 3, der Vergleich mit den Spektren der reinen Komponenten (Muscarin- und *allo*-Muscarinchlorid) sowie mit künstlich hergestellten Mischungen (nicht abgebildet) zeigen ebenfalls eindeutig, dass die Probe etwa 20% *allo*-Muscarinchlorid enthält. Das Ergebnis bestätigt die Ergebnisse der Pyrolyseversuche aufs schönste.

Die übrigen Muscarinproben aus *A. muscaria* und *Inocybe*-Arten (Nr. 4, 5, 6, 8, 9, 10) waren jeweils nach den in [11] [12] beschriebenen Verfahren bis zu den kristallisierten Tetrachlorauraten gereinigt und als solche aufbewahrt worden. Sie enthalten alle wechselnde Mengen von *allo*-Muscarin.

Allo-Muscarin ist somit erstmals als Naturstoff nachgewiesen worden. Der Gehalt daran betrug demnach im Tetrachloraurat, aus dem die Chloride Nr. 2 und Nr. 3 hergestellt worden sind, 3,7%.

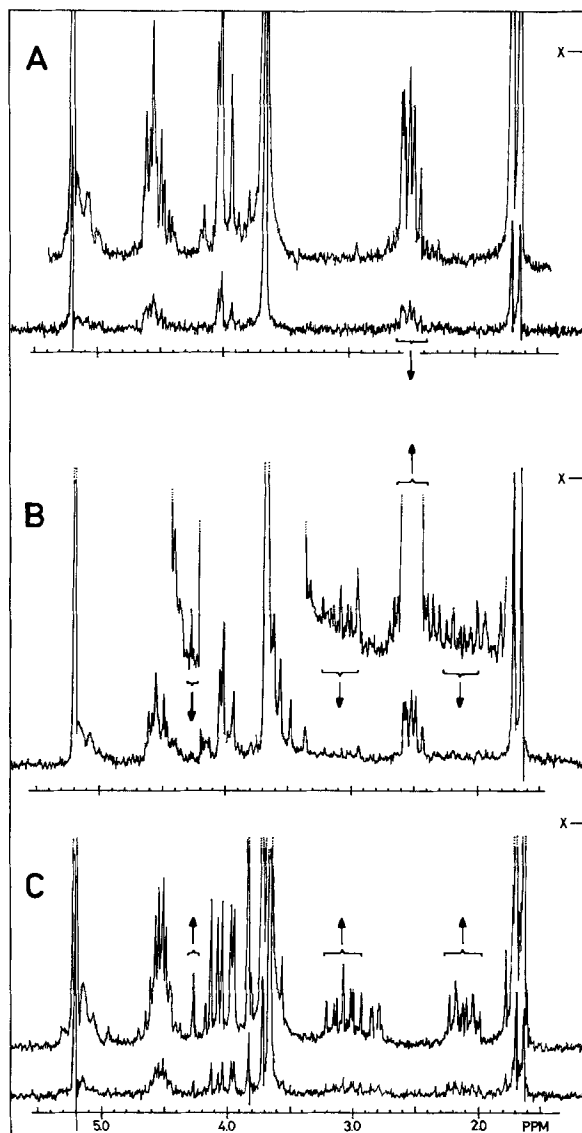


Fig.2. NMR.-spektroskopischer Nachweis von *allo*-Muscarinchlorid in einer Mutterlauge von Muscarinchlorid aus *A. muscaria* bei 100 MHz

A: reines Muscarinchlorid in D_2O .

B: Mutterlaugepräparat (Probe Nr.3) in D_2O ; der nach oben zeigende Pfeil kennzeichnet eine zum Muscarinchlorid gehörende Signalgruppe; die nach unten zeigenden solche, die zum *allo*-Muscarinchlorid gehören.

C: reines *allo*-Muscarinchlorid in D_2O .

Die Spektren sind abgeschnitten, X bedeutet die halbe Höhe des Originalspektrenblattes.

4) *Epiallo*-Muscarin ist in Proben Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 8 von Fliegenpilzen nicht mit Sicherheit nachzuweisen. Hingegen kommt es in *I. patouillardii* (Probe Nr. 9) vor. Das Ergebnis an *I. rimosa* s. *cookei* (Probe Nr. 11) ist als provisorisch zu betrachten, da die untersuchte Probe nicht mehr einwandfrei war und die sehr kleine Menge nur einen einzigen Pyrolyse-Versuch gestattete. Der Befund legt immerhin nahe, dass das vielgestaltige und als muscarinreich geltende Genus *Inocybe* FRIES erneut eingehend untersucht werden muss und dass dabei der definitive Nachweis aller Muscarin-isomeren erwartet werden darf. Die Voraussage ist berechtigt, dass in einzelnen Spezies stereomere Muscarine mengenmässig das Muscarin übertreffen werden.

Epiallo-Muscarin ist somit erstmals als Naturstoff nachgewiesen worden.

5) *Epi*-Muscarin ist in Proben Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 natürlicher Herkunft höchstens in Spuren nachzuweisen, ausser bei *I. rimosa* s. *cookei* (Probe Nr. 11), für welche Art die unter 4) gemachte Bemerkung gilt.

6) Probe Nr. 7: Um die bisher besprochenen Ergebnisse auf unabhängige Weise zu bestätigen, haben wir «Muscarin» erneut aus Fliegenpilzen unter Vermeidung von Fällungs- und Umkristallisationsverfahren isoliert. Im erhaltenen Konzentrat, das natürlich noch beträchtliche Mengen an Verunreinigungen enthielt, waren nach Pyrolyse eindeutig Normuscarin, *allo*-Normuscarin sowie *epi*-Normuscarin nachzuweisen. *Somit ist auch epi-Muscarin als Naturstoff aufgefunden.* Der Nachweis von *epiallo*-Muscarin für *A. muscaria* ist noch nicht mit Sicherheit geglückt.

Das Ergebnis zeigt, dass die Muscarinfraktion aus *A. muscaria* bis zu 10% stereomere Muscarine enthalten kann.

7) Ob in der Natur eventuell auch (–)-Muscarin (2*R*,3*S*,5*R*) auftritt, kann mit der gegenwärtigen Versuchstechnik natürlich nicht entschieden werden.

8) Aus den Ergebnissen der Pyrolyseversuche an den Synthesepreparaten (Proben Nr. 14, 15, 16), die aus früheren Trennversuchen stammen, ergibt sich mit Deutlichkeit, dass die quaternären Verbindungen mittels Verteilungsverfahren auch an sehr grossen Cellulosesäulen nur unvollkommen getrennt werden können. Bei *allo*-Muscarin-, Muscarin- und *epi*-Muscarinchlorid sind nur geringfügige Verschiebungen in der Zusammensetzung zu beobachten, hingegen reichert sich *epiallo*-Muscarinchlorid in Endfraktionen an.

9) Wir nehmen an, dass die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung für die Abklärung der noch nicht bekannten Biogenese des Muscarins Bedeutung haben werden. Wenn Hexosen als Vorläufer in Frage kommen, muss die Chiralität der natürlich vorkommenden Stereomeren vordringlich abgeklärt werden.

10) Muscarin verdankt Entdeckung und Reindarstellung vor allem seiner hohen und spezifischen Wirkungsqualität. Ohne diese Eigenschaft wäre Muscarin vermutlich bis heute unentdeckt geblieben. Die Stereomeren sind physiologisch sehr viel weniger aktiv. Da sie zudem nur in sehr geringer Konzentration in den Pilzorganismen vorkommen, konnten sie zweifellos nur auf dem Umweg über das Muscarin aufgefunden werden. Die vorher geleistete synthetische Vorarbeit hat Nachweis und Identifikation ganz wesentlich erleichtert.

Verdankungen. Wir danken Herrn Prof. K. GROB, Kantonsschule Zürich, für Herstellung und Überlassung der Kapillarkolonie sowie für eingehende gas-chromatographische Beratung; Herrn Dr. C. MAYER für 100-MHz-NMR.-Spektren; Herrn Dr. H. MEISTER, Hülis, für die Überlassung

von Proben aus seiner Synthese; Herrn R. STRICKLER für Mithilfe bei Aufarbeitungen; dem SCHWEIZ. NATIONALFONDS (Gesuch Nr. 4176) für finanzielle Unterstützung.

Experimentelles. – Die *Proben* wurden als Chloride in einem einseitig zugeschmolzenen Pyrexrohr, Durchmesser 12 mm, bei 200–240°/0,0001 Torr (Luftbad) pyrolysiert und die Norbasen in einem angeschmolzenen U-Rohr, Durchmesser 7 mm, mit flüssiger Luft ausgefroren. Normal-einwaagen 10 mg Substanz.

Gas-chromatographische Trennungen erfolgten an einem CARLO-ERBA-Gerät, Modell D, Typ AID (FID). Als Trennkolonne diente eine 16-m-Glaskapillare, Durchmesser 0,35 mm, beladen mit Emulphor 0/KOH 10%. Verdampfertemperatur 175° oder 200°; Detektortemperatur 200°; H₂-Druck 0,2 at, split 10 ml; Kolonnentemperatur 122° bei isothermen Versuchen, 80–130° bei programmierten Versuchen mit 3–4°/Min. Die quantitative Auswertung der Pike wurde mit einem CARLO-ERBA-Elektrometer-Digital-Integrator Modell 72 vorgenommen. Die qualitative Identifikation wurde wie üblich durch Zumischung von authentischen Proben vorgenommen, wobei besondere Sorgfalt zur Vermeidung von Kontaminationen aufgewendet wurde.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] C.H.EUGSTER, Chemie der Wirkstoffe aus dem Fliegenpilz (*Amanita muscaria*), Fortschr. Chem. org. Naturstoffe (L.ZECHMEISTER Ed.), Vol. 27, (1969), im Druck.
 - [2] C.H.EUGSTER, Naturwissenschaften 55, 305 (1968).
 - [3] C.H.EUGSTER, in «Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs», Ed. D.H.EFRON, Bo HOLMSTEDT & N.S.KLINE, U.S. Dept. of Health, Education & Welfare, Public Health Service Publication No.1645, pag. 416, Washington D.C. 1967.
 - [4] C.H.EUGSTER, «Über den Fliegenpilz», Neujahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft Zürich, 169. Stück, Leemann AG, Zürich 1967.
 - [5] H.GÖTH, A.R.GAGNEUX, C.H.EUGSTER & H.SCHMID, Helv. 50, 137 (1967).
 - [6] H.C.COX, E.HARDEGGER, F.KÖGL, P.LIECHTI, F.LOHSE & C.A.SALEMINK, Helv. 41, 229 (1958).
 - [7] C.H.EUGSTER, The chemistry of muscarine, Adv. org. Chemistry Vol.II, Interscience, New York 1960, S.450.
 - [8] C.H.EUGSTER, Helv. 39, 1023 (1956).
 - [9] G.ZWICKY, P.G.WASER & C.H.EUGSTER, Helv. 42, 1177 (1959).
 - [10] C.H.EUGSTER, Helv. 39, 1002 (1956).
 - [11] C.H.EUGSTER & G.MÜLLER, Helv. 42, 1189 (1959).
 - [12] C.H.EUGSTER, Helv. 40, 886 (1957).
 - [13] C.H.EUGSTER, Helv. 40, 2462 (1957).
 - [14] H.MEISTER, Liebigs Ann. Chem. 701, 174 (1967).
 - [15] C.H.EUGSTER, F.HÄFLIGER, R.DENSS & E.GIROD, Helv. 41, 205 (1958).
 - [16] C.H.EUGSTER, F.HÄFLIGER, R.DENSS & E.GIROD, Helv. 41, 583 (1958).
 - [17] C.H.EUGSTER, F.HÄFLIGER, R.DENSS & E.GIROD, Helv. 41, 705 (1958).
 - [18] H.CORRODI, E.HARDEGGER & F.KÖGL, Helv. 40, 2454 (1957).
 - [19] T.MATSUMOTO & H.MAEKAWA, Angew. Chem. 70, 507 (1958).
 - [20] H.MAEKAWA, A.ICHIHARA & T.MATSUMOTO, Bull. chem. Soc. Japan 38, 1161 (1965).
 - [21] E.HARDEGGER, N.CHARIATTE & N.HALDER, Helv. 49, 580 (1966).
 - [22] G.HANSEN, Protonenresonanzstudien der Konfiguration und Konformation der Muscarine, Diplomarbeit, Univ. Zürich 1965.
-