

# Beiträge zur vergleichenden Pflanzenchemie

## VII. Über *Knautia silvatica* Dub.

Von

Julius Zellner

(Vorgelegt in der Sitzung am 12. Juli 1923)

Die Gattung *Knautia* gehört den Dipsaceen an, einer Familie mit etwa 200 Arten, von denen bisher keine chemisch genauer untersucht ist. Die Species selbst hat keine praktische Verwendung, die nahverwandte *Knautia pratensis* war früher unter dem Namen *herba Scabiosae* officinell. Das Material stammte hauptsächlich aus dem Stubaital (Tirol), nur das für die quantitativen Bestimmungen verwendete aus dem Wienerwald. Es wurde lufttrocken verarbeitet.

### I. Die Blätter.

Die Extraktion des Materials (etwa 3 kg) geschah wie bei früheren Arbeiten<sup>1</sup>: Auskochen des Pflanzenpulvers mit Alkohol, Behandlung des Extraktes mit Wasser, Abscheidung der darin unlöslichen Stoffe und Trocknen derselben im Vakuum; hierauf erschöpfende Extraktion des getrockneten Produktes mit Petroläther (1) und Äther (2), wobei sich ein Rückstand (3) ergibt; sodann Einengen des wasserlöslichen Anteiles des Alkoholauszuges, Ausschütteln mit Äther zur Isolierung solcher Stoffe, die in Wasser und Äther löslich sind (4) und weitere Verarbeitung des in Äther unlöslichen Anteiles (5); endlich Extraktion des mit Alkohol erschöpften Pflanzenpulvers mit Wasser (6).

1. Petrolätherauszug. Die Untersuchung gestaltete sich wegen des reichlich vorhandenen Chlorophylls ziemlich mühsam. Der Extrakt bildet eine schwarzgrüne, dicksalbige Masse, die eine Säurezahl von 64 und eine Verseifungszahl 165 zeigt und ziemlich reich an Nichtfetten ist. Eine Aufarbeitung mit indifferenten Lösungsmitteln erwies sich als unausführbar; daher wurde mit alkoholischer

---

<sup>1</sup> Vgl. Abhandlung III dieser Reihe, Monatshefte 1922.

Lauge verseift und die wäßrige Seifenlösung mit Äther ausgeschüttelt; an der Trennungsfläche der beiden Flüssigkeiten scheidet sich ein Stoff aus, der nach dem Filtrieren zusammenhängende Häutchen bildet. Unter dem Mikroskop erscheint er undeutlich krystallinisch, in Holzgeist, Alkohol und Aceton ist er sehr schwer löslich, leichter in Benzol und dessen Homologen, aus den letzteren Lösungsmitteln wird er jedoch völlig amorph als wasserheller Firnis erhalten, gibt keine Sterin- oder Harzreaktion und dürfte ein hochmolekularer Wachsalkohol sein. Der in Äther lösliche Körper wird durch Umlösen aus Essigester von gelbroten Begleitstoffen (Chlorophyllabkömmlingen) befreit, mittels Tierkohle entfärbt und bildet mikroskopische, unregelmäßig begrenzte Krystallblättchen vom Fp.  $84^{\circ}$ ; gibt keine Sterinreaktionen, addiert kein Jod und liefert ein wachsartiges, krystallinisches Acetylprodukt vom Fp.  $69^{\circ}$ . Es dürfte Myricylalkohol vorliegen.

Analyse: 0.1130 g Substanz, vakuumtrocken gaben 0.3387 g  $\text{CO}_2$  und 0.1430 g  $\text{H}_2\text{O}$ , somit C = 81.74% und H = 14.05%; berechnet für  $\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}$  C = 82.19% und H = 14.15%.

Die oben erwähnte Seifenlösung liefert bei der Zersetzung mit Säure einen Niederschlag, der aus dreierlei Stoffen besteht: erstens Fettsäuren, die mit kaltem Petroläther extrahiert werden können (sie bilden eine schwach gelblichgrüne, krystallinische, halb feste, geruchlose Masse; die daraus gewonnenen festen Säuren schmelzen im gereinigten Zustand bei  $52$  bis  $55^{\circ}$  und sind ein Gemenge; für eine genauere Untersuchung dieser und der flüssigen Fettsäuren reichten die vorhandenen Mengen nicht aus); zweitens aus in Äther löslichen, amorphen, unangenehm tranartig riechenden, salbenartigen Stoffen von schwarzgrüner Farbe, wahrscheinlich Harzsäuren (die in alkoholischer Lösung durch Blei-, Kupfer- und Bariumacetat gefällt werden, aber mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure keine Rot- sondern eine helle Grünfärbung liefern); drittens aus Körpern phlobaphenartiger Natur, die in Alkohol löslich sind, aus dieser Lösung durch verdünnte Salzsäure gefällt werden und getrocknet ein schwarzgrünes Pulver bilden; die Hauptmenge dieser Stoffe findet sich im Anteil 3. Die saure Unterlage enthält wenig Glycerin, keine Phosphorsäure.

2. Der Ätherauszug bildet eine pulverige dunkelgrüne Masse; durch wiederholtes Auskochen mit Benzol beseitigt man dunkle harzige Substanzen, wodurch der Hauptbestandteil reiner erhalten wird. Man fällt diesen so oft aus siedendem Alkohol unter Tierkohlezusatz um, bis er weiß erscheint und der Fp.  $245$  bis  $246^{\circ}$  sich nicht mehr ändert. Er bildet ein Pulver, das unter dem Mikroskop in Gestalt kleiner rundlicher Körnchen, aber nicht krystallisiert erscheint. Der Stoff ist in wäßriger Lauge unlöslich, gibt mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure eine tiefblauviolette Färbung und ist acetylierbar. Er gehört zu der, wie es scheint, weitverbreiteten Gruppe nicht krystallisierter, indifferenten Harzalkohole.

Analyse: 0.1244 g Substanz lieferten 0.3410 g CO<sub>2</sub> und 0.1225 g H<sub>2</sub>O, somit C = 74.75 % und H = 10.92 %.

3. Der oben erwähnte Rückstand (3) wird zur Reinigung nochmals mit Äther extrahiert, dann in möglichst wenig siedendem Alkohol gelöst und mit viel verdünnter Salzsäure gefällt; er bildet gereinigt einen hellgelbgrünlichen Niederschlag, der beim Trocknen, namentlich in der Wärme fast schwarz wird, beim Zerreiben aber wieder seine ursprüngliche Farbe annimmt. Ist in wäßrigem Aceton und Alkohol mit bräunlicher Farbe löslich, ebenso in Alkalien. Es handelt sich um ein typisches Phlobaphen. Einige Réaktionen enthält die folgende Tabelle.

	Phlobaphen in alkoholischer Lösung	Gerbstoffe in wäßriger Lösung
Eisenchlorid	olivgrüne Färbung, beim Kochen Fällung	dunkelgrüne Färbung, dann Fällung
Kupferacetat	tiefgrüne Fällung	hellgrüne Fällung
Bleiacetat	bräunliche Fällung	gelbe Fällung
Barium- und Calciumacetat	Trübung	Trübung
Zinnchlorid	keine Reaktion	gelbe Fällung im Überschuß löslich
Kaliumbichromat	braune Trübung	braune Trübung
Bariumhydroxyd	braungrüne Fällung	braungelbe Fällung
Kaliumhydroxyd	gelbrote Färbung und Trübung	gelbrote Färbung
Formalin und Salzsäure	—	flockige Trübung
Bromwasser	—	gelbe Fällung

4. Die durch Äther aus dem wäßrigen Auszug des Alkohol-extraktes ausziehbaren Stoffe sind amorph und dürften Gerbstoff-abkömmlinge sein. Ihre Menge ist sehr gering, so daß eine nähere Untersuchung nicht möglich war.

5. Die wasserlöslichen Körper des Alkoholauszuges sind überwiegend Gerbstoffe. Die wäßrige Lösung wurde fraktioniert mit neutralem und basischem Bleiacetat gefällt; die erste graugelbe Fraktion enthält außer Gerbstoff kleine Mengen organisch-saurer

Bleisalze neben etwas Phosphat und Sulfat; die mittlere, rein gelbe Fraktion wurde auf Gerbstoff verarbeitet durch Entbleien mit  $H_2S$ , Eindampfen im Vakuum, Wiederauflösen in Wasser, Abfiltrieren von Phlobaphenen und neuerliches Eindampfen im Vakuum. Der Gerbstoff bildet eine gelbbraunliche, spröde, etwas hygroskopische Masse. Einige Reaktionen enthält die vorstehende Tabelle. Die vorsichtig bis zur schwachen Braunfärbung durchgeführte Natronschmelze lieferte, in bekannter Weise aufgearbeitet, Protokatechusäure, die nach öfterem Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Tierkohlezusatz rein erhalten wurde.

Identifizierung: Krystallinisches Pulver vom Fp  $198^\circ$ , Mischschmelzpunkt mit einem Merck'schen Präparat  $198^\circ$ .

Analyse:  $0.1375\text{ g}$ , bei  $100^\circ$  getrocknet, gaben  $0.2739\text{ g CO}_2$  und  $0.0495\text{ g H}_2\text{O}$ , somit  $C = 54.32\%$  und  $H = 4.00\%$ , berechnet für  $C_7H_6O_4$   $C = 54.54\%$  und  $H = 3.89\%$ .

Die wäßrige Lösung gibt mit Eisenchlorid eine Grünfärbung, die auf Sodazusatz in Violett übergeht, ammoniakalisches Silbernitrat wird in der Kälte sofort reduziert, Bleizucker liefert eine in Essigsäure lösliche Fällung.

Neben Protokatechusäure entsteht noch in der Natronschmelze Essigsäure (erhalten durch Destillation der mit Schwefelsäure angesäuerten Schmelze).

Das Filtrat von den Bleifällungen wird nach Behandlung mit  $H_2S$  eingengt, es konnten darin Invertzucker und Cholin nachgewiesen werden.

Nachweis. Invertzucker: Die Lösung gibt eine starke  $\alpha$ -Naphтолreaktion, reduziert kräftig Fehling'sche Lösung, ist linksdrehend und liefert das Glukosazon, das nach zweimaligem Umkrystallisieren rein erhalten wird (Fp.  $204^\circ$ ).

Cholin: Die Lösung wird mit Kaliumquecksilberjodid und verdünnter Schwefelsäure versetzt, das gelbe krystallinische Doppelsalz mit feuchtem  $Ag_2O$  zersetzt und die freigemachte Base in das Golddoppelsalz verwandelt. Es bildet gelbe, im kalten Wasser schwer lösliche Krystalle vom Fp.  $247^\circ$ .

Analyse:  $0.1040\text{ g}$  trockenes Goldsalz hinterließen  $0.0460\text{ g}$  Gold, somit  $44.23\%$ ; berechnet für  $C_5H_{14}NOCl \cdot AuCl_3$   $44.49\%$ .

6. Der Wasserauszug enthält ein kolloidales Kohlehydrat, dessen Reinigung wegen schlechter Filtrierbarkeit sowie wegen des reichlichen Vorhandenseins von Mineralstoffen und Tannoiden schwierig ist; die durch Alkohol erzeugte Rohfällung wird durch öfteres Wiederauflösen in Wasser, Zusatz von etwas Salzsäure und neuerliche Fällung mittels Alkohols, weiters mit Hilfe der Dialyse durch Pergamentpapier gereinigt.

Das möglichst gereinigte Produkt ist ein weißes, amorphes, nicht hygroskopisches Pulver, das in heißem Wasser leicht löslich ist. Diese Lösung gibt keine Jodreaktion, wird durch Ätzbaryt in weißen Flocken, durch Bleiessig als farblose Gallerte gefällt; Fehling'sche Lösung fällt nicht und wird beim Kochen nicht reduziert. Der Abbau mit verdünnter Schwefelsäure unter Druck ergibt, daß weder Mannose, noch Glukose, noch Fruktose als Bausteine des

Moleküls vorhanden sind. Hingegen liefert der Abbau mit Salpetersäure reichliche Mengen Schleimsäure, die durch öfteres Umkrystallisieren aus heißer verdünnter Salzsäure aschenfrei erhalten wird (Fp. 210°), und die Destillation mit Salzsäure beträchtliche Mengen von Furol, das in bekannter Weise nachgewiesen wurde. Das Kohlehydrat ist also ein Galaktopentosan.

Außerdem enthält die Pflanze noch Methylpentosane und kleine Mengen Stärke, die mikroskopisch in Gestalt kleiner runder Körnchen nachgewiesen wurde.

## II. Die Blüten.

Es gelangten die Korollen ohne Kelche (etwa 100 g) zur Untersuchung. Die geringe Menge gestattete nur eine vorläufige Orientierung.

1. Der Petrolätherauszug bildet eine gelbliche, halb feste Masse. Die Fettsäuren sind größtenteils fest, der Schmelzpunkt der gereinigten festen Fettsäuren liegt bei 55°. Von unverseifbaren Stoffen sind zwei vorhanden: ein in Alkohol und Essigester sehr schwer, hingegen in Benzol löslicher, wahrscheinlich identisch mit dem analogen Stoff der Blätter, und ein in Essigester leicht löslicher, kristallinischer Körper vom Fp. 64°.

2. Der Ätherauszug enthält zwei amorphe Harze, ein gelbliches, in Aceton und Essigester lösliches und ein braunes, das in jenen Lösungsmitteln nicht, wohl aber in Alkohol löslich ist. Das erstere wird in alkoholischer Lösung durch Bleiacetat eigelb, durch Kupferacetat helloliv, durch Eisenchlorid braungrün gefärbt, das letztere gibt mit den betreffenden Reagentien einen dunkelgelben, beziehungsweise grünen und tiefbraunen Niederschlag. Beide Harze sind saurer Natur und in wässriger Lauge größtenteils löslich. Der pulverige Harzalkohol der Blätter ist hingegen nicht nachweisbar.

3. Das Phlobaphen, in gleicher Weise gewonnen wie bei den Blättern, ist dem erwähnten Stoff in allen Eigenschaften ähnlich, vielleicht mit ihm identisch.

4. Die durch Äther aus dem wässrigen Auszug des Alkohol-extraktes gewonnenen Anteile waren zu gering, um untersucht werden zu können.

5. Der in Wasser lösliche Teil des Alkoholauszuges enthält kleine Mengen eines Anthokyans, reichliche Mengen eines Gerbstoffes, der mit dem der Blätter übereinstimmt, wenigstens insoweit, als er in der Kalischmelze ebenfalls Protokatechusäure liefert, ferner Invertzucker.

6. Im Wasserauszug findet sich ein pektinartiges Kohlehydrat, das sich ganz ähnlich dem der Blätter verhält und beim Abbau ebenfalls Schleimsäure und Furol liefert.

Über die quantitativen Verhältnisse gibt die folgende Zusammenstellung Aufschluß.

Analytische Daten. 1. Blätter: *a)* 4·6342 g Trockensubstanz ergaben 0·1487 g Petroläther-, 0·0991 g Äther- und 1·1943 g Alkoholextrakt; der letztere enthält 0·2170 g Phlobaphene; *b)* 13·6364 g Trockensubstanz wurden mit heißem Wasser erschöpft und die Auszüge auf 1 l gebracht; hiervon ergaben 100 cm<sup>3</sup> 0·5590 g Gesamtextrakt und 0·1129 g Extraktasche; weitere 100 cm<sup>3</sup> verbrauchten zur Neutralisation (Indikator: Phenolphthalein) 1·2 cm<sup>3</sup> Lauge (1 cm<sup>3</sup> = 0·02854 g KOH); fernere 100 cm<sup>3</sup> wurden mit Bleiessig auf 110 cm<sup>3</sup> gebracht und in 50 cm<sup>3</sup> des entbleiten Filtrats der Zucker nach Allihn bestimmt, wobei 0·05126 g Cu erhalten wurden; endlich wurden 300 cm<sup>3</sup> auf ein Zehntel des Volumens eingeengt und nach Salzsäurezusatz mit Alkohol gefällt, die Menge der löslichen Kohlehydrate betrug nach Abzug der Asche 0·1649; *c)* 8·0505 g Trockensubstanz lieferten (nach der offiziellen technischen Methode) bei einem Extraktvolumen von 500 cm<sup>3</sup> in je 50 cm<sup>3</sup> 0·3360 g Gesamtrückstand und (nach Vornahme der Korrekturen) 0·0628 g entgerbten Extrakt; *d)* 4·6342 g Trockensubstanz lieferten 0·6580 g Rohfaser; *e)* 3·6347 g Trockensubstanz ergaben 0·3167 g Furophloroglucid (nach Korrektur) und 0·0190 g Methylphloroglucid; *f)* 1·9065 g Trockensubstanz verbrauchten nach Kjeldahl 5·25 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 cm<sup>3</sup> = 0·00711 g N); *g)* 3·7601 g Trockensubstanz enthielten 0·5046 g Asche.

2. Blüten: *a)* 7·1596 g Trockensubstanz gaben 0·1566 g in Petroläther, 0·2575 g in Äther und 2·1581 g in Alkohol lösliche Stoffe, die letzteren enthielten 0·4431 g Phlobaphene (nach Abzug der Asche); *b)* 17·1024 g Trockensubstanz wurden mit Wasser erschöpft und die Auszüge auf 1 l gebracht; hiervon enthielten 100 cm<sup>3</sup> 0·6744 g Gesamtextrakt und 0·1044 g Extraktasche; weitere 100 cm<sup>3</sup> benötigten zur Neutralisation 1·5 cm<sup>3</sup> Lauge (1 cm<sup>3</sup> = 0·02854 g KOH); 100 cm<sup>3</sup> wurden mit Bleiessig auf 110 cm<sup>3</sup> gebracht und in 50 cm<sup>3</sup> des entbleiten Filtrats der Zucker nach Allihn bestimmt, wobei 0·0824 g Cu erhalten wurden; endlich wurden 300 cm<sup>3</sup> auf ein Zehntel des Volumens eingeengt und nach Salzsäurezusatz mit Alkohol gefällt, erhalten 0·1146 g Kohlehydrate (nach Abzug der Asche); *c)* 10·2468 g Trockensubstanz lieferten (nach der offiziellen Methode) bei einem Extraktvolumen von 500 cm<sup>3</sup> in je 50 cm<sup>3</sup> 0·4085 g Gesamtrückstand und (nach Vornahme der Korrekturen) 0·3360 g entgerbten Extrakt, somit 0·0725 g Gerbstoff; *d)* 7·1596 g Trockensubstanz enthielten 1·2437 g Rohfaser; *e)* 3·7074 g Trockensubstanz ergaben 0·4410 g Phloroglucid (nach Korrektur) und 0·0280 g Methylphloroglucid; *f)* 1·8947 g Trockensubstanz verbrauchten nach Kjeldahl 5·05 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 cm<sup>3</sup> = 0·007135 g N); *g)* 1·1325 g Substanz enthielten 0·0970 g Asche.

Somit in 100 Teilen Trockensubstanz<sup>1</sup>:

	Blätter	Blüten
1. Petrolätherauszug .....	3·21	2·18
2. Ätherauszug .....	2·13	3·59
3. Alkoholauszug .....	25·77	30·14
4. Phlobaphene .....	4·68	6·18
5. Gerbstoffe .....	7·80	6·85
6. Wasserauszug .....	40·99	39·43
7. lösliche Mineralstoffe .....	8·27	6·10
8. Freie Säure als KOH .....	2·51	2·50
9. Reduzierender Zucker .....	4·43	5·38
10. Lösliche Kohlehydrate .....	4·03	2·23
11. Rohfaser .....	14·19	17·37
12. Pentosane .....	7·68	10·49
13. Methylpentosane .....	1·02	1·37
14. Gesamtstickstoff (Rohprotein) .....	1·96 (12·25)	2·69 (16·81)
15. Gesamtasche .....	13·42	8·56
16. Leichter hydrolysierbare Membranstoffe nicht pentosanartiger Natur (aus der Differenz) .....	8·70	0·12

Die obigen Zahlenreihen sind in doppelter Beziehung auf-fallend und dies um so mehr, als es sich nicht um einen vereinzelt-

<sup>1</sup> Die frischen Blätter enthalten 77·6%, die frischen Blüten 71·6% Wasser.

Fall handelt, da bei einer anderen, systematisch nicht verwandten Art (*Chamaenerium angustifolium*, Familie der Onagraceen) ganz ähnliche Verhältnisse angetroffen wurden. Erstens war zu erwarten gewesen, daß Blätter und Blüten, wenn sie auch als Organe desselben Organismus in qualitativer Hinsicht vielfach übereinstimmen, doch in quantitativer Beziehung größere Abweichungen aufweisen würden. Man sollte meinen, daß bei den Blüten infolge ihrer zarten Beschaffenheit die Membranstoffe vermindert, Gerbstoffe und Phlobaphene nur in ganz geringer Menge vorhanden seien, daß hingegen infolge des Nektargehaltes der Zucker vermehrt und mit Bezug auf die große, der Verdunstung günstige Oberfläche der Gehalt an hygroskopischen Polysacchariden und krystalloiden, den Dampfdruck herabsetzenden Mineralsalzen wesentlich erhöht sei. Statt dessen ergibt sich folgendes: die äußerlich sehr augenfälligen Unterschiede, die auf der Ungleichheit der Textur und der Anwesenheit, beziehungsweise dem Mangel an Chlorophyll und Anthokyan beruhen, kommen gewichtsmäßig nicht sehr zum Ausdruck. Die Membranstoffe sind zwar im ganzen (Rubrik 11, 12, 13, 16) in den Blättern reichlicher vorhanden, doch ist zu bedenken, daß die in Rubrik 16 befindliche Zahl aus der Differenz berechnet<sup>1</sup> und daher mit mancherlei analytischen Fehlern behaftet ist, außerdem noch andere Stoffe unbekannter Art an diesem Werte partizipieren. Der Invertzucker ist in den Blüten nur unwesentlich vermehrt, kolloidale Polysaccharide und Mineralstoffe vermindert, Gerbstoffe und Phlobaphene zusammengekommen fast gleich. Nur der Gesamtstickstoff ist erwartungsgemäß in den Blüten bedeutend erhöht. Im ganzen aber sind die Unterschiede gering und die beiden Zahlenreihen über alles Erwarten ähnlich. Weitere quantitative Versuche an anderen Pflanzen werden zeigen, ob diese Erscheinung eine weitverbreitete ist.

Zweitens ist der hohe Gehalt an Tannoiden in den Blüten auffallend. Über diesen speziellen Gegenstand ist bis jetzt nur wenig gearbeitet worden.<sup>2</sup> Bekanntlich existiert über die physiologische Bedeutung der Gerbstoffe bisher keine Annahme, welche die verschiedenartigen Vorkommnisse der Tannoide von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus zu erklären imstande wäre. Wenn man bedenkt, daß die Blüten, deren Entfaltung und Dauer nur nach wenigen Tagen zählt und deren Stoffumsatz daher ein sehr reger sein muß, so erhebliche Mengen von Tannoiden enthalten wie im vorliegenden Fall, so ist der Gedanke kaum abzuweisen, daß die Gerbstoffe in diesen Fällen eine wesentliche Bedeutung für die Stoffwandlung besitzen. Von den bisher aufgestellten Hypothesen dürfte jene, die das Auftreten der Tannoide mit dem Sauerstoffumsatz, d. h. also der Atmung in Zusammenhang bringt, wohl als die wahrscheinlichste zu betrachten sein.

<sup>1</sup> Durch Summation der in den Rubriken 1, 2, 4, 6, 11, 12, 13, 14 und 15 (vermindert um 7) enthaltenen Zahlen und Subtraktion von 100.

<sup>2</sup> Paasche, Dissert. Göttingen 1910