Chemische Untersuchung des Semen Lycopodii;

von

Dr. J. Schnauss in Jena.

In der Absicht, den Pollen, resp. die Sporen verschiedener Pflanzen einer näheren Untersuchung und Vergleichung ihrer chemischen Bestandtheile zu unterwerfen, wozu mir eine Bemerkung meines Freundes, Dr. Ludwig, Veranlassung gab, begann ich die Reihe mit dem *Semen Lycopodii*, da er am leichtesten in hinlänglicher Menge zu bekommen war. Nun ist derselbe zwar schon mehrmals untersucht worden, wie z. B. von Bucholz, John, Raspail und Macaire Princep; dennoch dürfte es wohl gerechtfertigt erscheinen, wenn ich hiermit die Resultate meiner jahrelangen sorgfältigen Arbeiten über denselben Gegenstand veröffentliche, um so mehr, als sie von denen der genannten Chemiker in Manchem bedeutend abweichen und wohl auch einiges Neue enthalten.

Zur Erleichterung des Ueberblickes führe ich hier die wichtigsten der früheren Arbeiten über die Bestandtheile des *Semen Lycopodii* und einiger anderer Pollen-, resp. Sporen-Arten in kurzen Auszügen an:

1. Macaire Princep hat den Pollen der Ceder und des *Lycopod.* untersucht. Ersterer enthält phosphorsaures, schwefelsaures, äpfelsäures Kali, Kieselerde, Zucker, Gummi, gelbes Harz und eine stärkeartige unlösliche Substanz. Das Pollenin davon soll bestehen aus:

Ceder.	Lycopod.
C = 40,0	C = 52,2
O = 48,3	O = 39,2
H = 11,7	H = 8,6
<hr/> 100,0	<hr/> 100,0.

Er findet also in beiden keinen Stickstoff.

2. Winkler findet das *Lycopodium* gleich der Stärke von einer unlöslichen Hülle umgeben, die durch Reiben zerstört werden kann, worauf Wasser die löslichen Bestandtheile leicht ausziehe, welche 42,5 Proc. betragen sollen.

Nach dem Verdunsten hinterlässt das Wasser eine hellgelbe, glänzende, spröde Masse, die sowohl in kaltem als in warmem Wasser leicht auflöslich ist und in Alkohol und Aether unlöslich. Eine concentrirte Auflösung wird von Jodtinctur mit orangegelber Farbe gefällt. Der in kaltem Wasser unlösliche Theil des *Lycopodium* soll mit Wasser gekocht eine Auflösung geben, die, ohne kleisterartig zu sein, durch Jod blau wird. (?)

3. Braconnot hat den Pollen von *Typha latifolia* untersucht. Er enthält nach ihm Zucker, Gummi, Extractivstoffe, Fett u. A. und zurückblieb ein Pollenin, das sich von dem der Datteln und dem *Lycopodium* unterscheidet. Es enthielt weniger Stickstoff als das Pflanzeneiweiss, und wird von concentrirter Schwefelsäure, Salzsäure und kochender Essigsäure gelöst und daraus durch Wasser gefällt. Dieser Niederschlag ist in Kali und Ammoniak löslich, woraus er durch Säuren wieder gefällt wird. Kocht man aber die Lösung in Kali, so wird sie nicht mehr von Säuren gefällt, wohl aber von Alkohol und Gerbstoff. Es fault nicht.

4. Fritzsche hält das sogenannte Pollenin für ein Organ, welches aus mehreren unlöslichen Pflanzenstoffen bestehe. Es wird von zwei, bisweilen von drei Häutchen umgeben. Das äusserste Häutchen färbt sich mit Jod braun, das innerste nimmt aber davon keine Farbe an. Das äusserste wird durch keine Reagentien angegriffen, selbst nicht durch concentrirte Schwefelsäure.

Die innerhalb der Häutchen befindliche Masse, das Pollenin, besteht nach Fritzsche 1) aus einem Schleim, welcher sich in einem halbfliessigen Zustande befindet, in Wasser aufquillt und darin vertheilt, durch Säuren coagulirt wird und sich mit Jod braun färbt; 2) aus einem ölartigen Körper, welcher in Tropfen durch die ganze Schleimmasse vertheilt ist; 3) aus kleinen Stärkekörnern, welche sich mit Jod blau färben.

Durch etwas verdünnte Schwefelsäure zerplatzen die Häutchen. Durch Kochen mit Wasser, Alkohol und Aether

wird der Pollen nicht verändert, aber die beiden letzteren ziehen ein wenig Fett aus den Integumenten. Wird der Pollen mit verdünnter Kalilauge gekocht, so sieht es zwar aus, als wäre der Inhalt der Häutchen ausgezogen worden, wird aber das Ungelöste nachher wieder getrocknet, so erkennt man, dass der Pollen bloss angeschwollen war und dass die Häutchen noch das meiste von dem umschliessen, was sie vorher enthielten.

5. Bucholz fand im *Lycopodium*: »einen eiweissähnlichen Stoff, Pollenin genannt, ein fettes Oel, wachsartige Substanz, Stärkemehl, Zucker und schleimiges Extract « (Schömann, Arzneimittellehre, S. 592.)

In diesen verschiedenen Untersuchungen finden sich mancherlei Widersprüche und Unrichtigkeiten. Ich gehe nun zu meiner eigener Untersuchung über, die neben vielem Interessanten auch manche Schwierigkeit darbot. Abgesehen von den nur sehr geringen Mengen löslicher Stoffe, war es besonders die starke hygroskopische Eigenschaft der Sporen, welche die quantitative Analyse erschwerte. Ihre äusserst schwer verbrennliche Kohle machte vorläufig deren genaue quantitative Analyse unthunlich.

Die Untersuchung, zu der ich mehr als 1 Pfund Material verwendete, habe ich erstens nach den verschiedenen Lösungsmitteln und zweitens nach den die chemische Constitution des Sporen selbst verändernden Kräften eingetheilt. Die nachfolgenden Versuche wurden oft dreibis vierfach wiederholt, um über das Resultat vollkommen sicher zu sein.

I. Das wässerige Extract des *Semen Lycopodii*.

Dasselbe wurde erhalten, indem eine beträchtliche Quantität des *Semen Lycopodii* mit der drei- bis vierfachen Menge destillirten, auf etwa 300 C., erwärmten Wassers $\frac{1}{4}$ Stunde lang geschüttelt und dann abfiltrirt wurde. Die Masse wurde dann nochmals mit Wasser ausgekocht. Das *Semen Lycopodii* bildete zuletzt einen dicken Brei mit dem Wasser, auch wenn letzteres ganz

ganz kalt war, und sonderte sich selbst nach längerem Stehen nicht wieder ab. Diese Eigenschaft kommt auch dem ganz reinen Pollenin zu und hängt wahrscheinlich von dessen grosser wasseranziehenden Kraft ab. Pflanzenschleim konnte nicht nachgewiesen werden. Das Filtriren geht leicht von statten, es bleibt jedoch den Sporen eine bedeutende Menge Wassers mechanisch anhängen, das nur durch vielmal wiederholtes Auswaschen und zuletzt Auspressen mit den darin gelösten Stoffen vollständig gewonnen werden kann. Wenn das klare farblose Filtrat nahe bei der Kochhitze verdampft wird, so bildet sich auf der Oberfläche eine sehr dünne, schwach opalisirende Haut von Pflanzenalbumin. Das davon Abfiltrirte und vorsichtig bis nahe zur Trockniss Verdampfte ist braun, von klebriger Consistenz und besitzt einen bitteren Geschmack, so wie eine schwach saure Reaction. Mit Natronkalk gemengt und erhitzt, entwickelt es noch bedeutende Mengen Ammoniaks und mit Soda (die vorher geprüft worden) auf Kohle geglüht und dann mit Wasser und etwas Nitroprussidnatrium in Berührung gebracht, gab es eine starke Schwefelreaction. Aus allem diesem ging die fernere Gegenwart einer Proteinsubstanz hervor, und zwar des Pflanzencaseins oder Legumins; denn concentrirte Salzsäure färbte eine kleine Probe im ersten Augenblick dunkelblau. In Wasser gelöst, zeigte das Extract einen bedeutenden Gehalt an organischen Kalksalzen, besonders an äpfelsaurem Kalk. Die Prüfung auf Citronen- und Essigsäure, wiederholt und mit möglichster Umsicht angestellt, gab wegen der kleinen Quantität und des Gemenges so verschiedener organischer Substanzen kein sicheres Resultat. Wir besitzen auch auf Gummi kein ganz specielles Reagens, wenn dasselbe mit vielen anderen organischen Substanzen gemengt ist. Das schon vor langer Zeit dazu empfohlene schwefelsaure Eisenoxyd in wässriger Lösung kann jedoch nur für ziemlich concentrirte gummöse Lösungen erfolgreich benutzt werden, und in besonderen Fällen, wie in dem vorliegenden, nur unter gewissen Vorichtsmaassregeln. Das schwefelsaure Eisenoxyd erzeugt

nämlich in den meisten concentrirten Pflanzensäften, selbst ohne Gegenwart von Gummi, einen flockigen Niederschlag von Gyps, wenn dieselben, wie fast immer, reich an Kalksalzen sind. Um die Gegenwart des Gummi zu constatiren, musste ich daher zunächst ein schwefelsaures Alkali zusetzen, um den Gyps so weit als möglich auszufällen; zu dem Filtrat fügte ich schwefelsaures Eisenoxyd, welches jetzt wirklich die Gegenwart von nicht unbeträchtlichen Mengen Gummi (*Arabin*) zu erkennen gab.

Interessant ist die Abwesenheit von Stärkemehl und Zucker, letzteres wegen des in der Folge angegebenen Verhaltens des Alkoholextractes.

Wenn man in dem inneren Zellgewebe der Sporen des *Lycopodium* auf mikroskopischem Wege die Gegenwart von Amylum beobachtet haben will, so ist es doch gewiss, dass die chemische Prüfung mit alkoholischer Jodlösung völlig negativ ausfällt.

Unter dem Mikroskop, bei 125facher Linear-Vergrösserung schon recht deutlich, erscheinen die Sporen bekanntlich in Gestalt unregelmässig rundlicher, auf der Oberfläche mit kleinen Spitzen versehener Körner (von gelblicher Farbe bei dem *Lycopodium*). Die Structur der inneren Zellen lässt sich recht deutlich erkennen. Presst man die Objectgläser unter gelinder Reibung etwas zusammen, so zerplatzen gemeiniglich mehrere Sporen und der Inhalt zeigt sich in Form kleinerer und grösserer ganz klarer Oeltröpfchen. Auf Zusatz von Jodtinctur bleiben letztere gänzlich unverändert, und das häutige Säckchen, aus dem sogenannten Pollenin bestehend, wird nur etwas dunkler gelb gefärbt. Nach Schleiden's Ansicht ist ebenfalls kein Stärkemehl im *Lycopodium* enthalten.

17,5 Grm. lufttrockner Bärlappsamen wurden mit 1 Pfd. destillirtem Wasser auf vorerwähnte Weise möglichst vollständig extrahirt. Der nach dem Verdampfen hinterbliebene, unter der Luftpumpe getrocknete Rückstand wog 0,0940 Grm., was 0,52 Proc. im Wasser lösliche Bestandtheile des Samens beträgt.

Ein zweiter Versuch mit 8,742 Grm. Bärlappsamen ergab 0,036 Grm. Extract oder 0,41 Procent. Das Mittel wäre folglich 0,46 Procent. Die quantitative Bestimmung der einzelnen Bestandtheile des wässerigen Extracts schien mir ohne besonderes Interesse zu sein; ich unterliess sie daher, da dieselbe der kleinen Menge des Extracts wegen auch kaum ausführbar gewesen wäre.

II. Das alkoholische Extract.

Dasselbe enthielt die Hauptbestandtheile und wurde mit besonderer Sorgfalt untersucht. Ich wendete sowohl Spiritus von 80 Procent, als auch absoluten Alkohol an. Ersterer nimmt einige der in Wasser löslichen Bestandtheile mit auf; die Lösung trübt sich auf Zusatz von absolutem Alkohol. Die Sporen wurden kochend mit einer bedeutenden Menge Alkohols (von 80 Proc.) behandelt. Letzterer zeigte nach dem Filtriren, je nach der Concentration, eine mehr oder weniger intensive bouteillengrüne Farbe. Während des Abdampfens und sobald der Alkohol grösstentheils entfernt und fast nur noch eine wässrige Lösung vorhanden ist, trübt sich die gelblich werdende Flüssigkeit unter Abscheidung dunkel-olivengrüner Oeltropfen. Die letzteren wurden sogleich mit einer Pipette vorsichtig abgenommen. Nach dem Erkalten verloren sie ihre Durchsichtigkeit und erstarrten zu einer schmutzig-grünen Masse von Butterconsistenz, worin sich gelbliche Flocken eines andern Körpers ausgeschieden hatten. Erhitzt man das Fett gelinde bis zum Schmelzen, so sieht man diese Ausscheidung noch deutlicher. Durch Behandeln mit Aether, worin die gelblichen Flocken unlöslich sind, kann man sie vom Fett trennen. Nach dem Verdampfen des Aethers bleibt die fettartige Substanz ziemlich rein zurück. Sie besitzt eine schmutzig-grüne Farbe, einen hervorstechend obstähnlichen süssen Geruch und einen gleichen, etwas bittern Geschmack. Durch Kali wird dies Fett unter Verlust der grünen Farbe leicht verseift und von Säuren daraus in gelblichen Flocken gefällt, denen noch der Geruch ein wenig adhärirt. Letzterer rührt offenbar von einer

sehr geringen Menge eines ätherischen Oeles her, das sich nicht isoliren lässt. Durch Destillation des Fettes mit Wasser geht nichts Sichtbares mit diesem über, es nimmt aber den Geruch etwas an. Ebenso mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, giebt das Fett ein schwach sauer reagirendes Destillat von eigenthümlichem, buttersäureähnlichem Geruch. Das Fett verliert mit der Zeit und bei wiederholtem Auflösen seine graue Farbe vollständig und erhält ein schmutzig-hellbraunes Ansehen. Der Geruch bleibt aber fast mit gleicher Deutlichkeit.

Der in Flocken sich aus dem Fett ausscheidende Körper zeigt ein eigenthümliches chemisches Verhalten. Im frischen Zustande und noch feucht ist er in absolutem kochendem Alkohol etwas löslich, wird darin aber, nach dem Trocknen und längeren Aufbewahren, fast ganz unlöslich. Seine Trennungsweise von dem ihn begleitenden Fett lehrt ferner, dass er auch in Aether unlöslich ist. Er stellt in reinem Zustande eine bernsteingelbe, geruch- und geschmacklose, durchsichtige, amorphe Masse dar, die in dünnen Lamellen, wie man sie nach dem Verdampfen der alkoholischen Lösung erhält, elastisch biegsam und nicht pulverisirbar ist. Anfangs hielt ich ihn für eine Art Wachs, und wahrscheinlich ist dies dieselbe Substanz, welche in den vorhin citirten Untersuchungen verschiedener Chemiker irriger Weise als Wachs angegeben wird, denn ausserdem kommt keine wachsähnliche Substanz weiter in den Sporen des *Lycopodium* vor. Vom Wachs unterscheidet sich aber dieser Körper vollkommen durch sein grösseres spec. Gewicht, d. h. er sinkt im Wasser unter. Er ist ferner bei gelindem Erwärmen nicht schmelzbar und stärker erhitzt, verbrennt er mit dem eigenthümlichen Geruch stickstoffhaltiger Substanzen. Mit Natronkalk gemengt und geglüht, entwickelt er Ammoniakgas, das an der Bräunung des Curcumapapiers, den Salmiaknebeln und an dem Geruch unzweifelhaft erkennbar ist. Die mit Soda auf Kohle geglühte Masse giebt mit Nitroprussidnatrium intensive Schwefelreaction. Besonders charakterisirt diesen eigenthümlichen Körper seine Unlöslichkeit in den ver-

schiedensten Flüssigkeiten. Wie schon erwähnt, ist er unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, ferner in kochender concentrirter Essigsäure und Salzsäure; sogar concentrirte kochende Kalilauge wirkt scheinbar nicht darauf ein, höchstens wird der Körper undurchsichtig und hornartig. Verdünnte Salpetersäure bleibt ohne Einfluss, concentrirte kochende Salpetersäure bringt die oben erwähnte Verwandlung in eine hornartige Substanz hervor und scheint ihn nach dem Waschen und Trocknen schwach explosiv gemacht zu haben. Concentrirte kochende Schwefelsäure verkohlt ihn unter Entwicklung von schwefliger Säure.

Bedenkt man, dass das Pollenin, d. h. die häutige Umhüllung der Sporen, an und für sich in den meisten Flüssigkeiten unlöslich ist; ferner, dass es Stickstoff und, wie ich selbst gefunden habe, auch Schwefel enthält, so ist es wahrscheinlich, dass der oben beschriebene Stoff eine lösliche Modification des Pollenins, vielleicht eine zweite innere Hülle der Sporen ist, welche vermöge der Endosmose von kochendem Alkohol nebst dem Fett, Zucker und den übrigen löslichen Substanzen ausgezogen, an der Luft sich verändert und nun ebenfalls unlöslich wird, also gleichsam in den Zustand des natürlichen Pollenins übergeht. In dieser Eigenschaft und dem Gehalt an Stickstoff und Schwefel würde sich einige Aehnlichkeit mit den Proteinsubstanzen finden lassen, wenn die Unlöslichkeit des neuen Körpers in Alkalien und Säuren und seine bedingte Löslichkeit in Alkohol ihm nicht eine besondere Eigenthümlichkeit verliehe. Schon Raspail hat bekanntlich das Pollenin für eine kleberartige Substanz erklärt.

Wenden wir uns nun zur näheren Betrachtung der Flüssigkeit, welche nach Absonderung der obenschwimmenden Fetttropfen zurückbleibt. — Ist die Extraction durch absoluten Alkohol ausgeführt worden, so scheiden sich oft schon beim Abdestilliren des Alkohols zur Hälfte, wenn man ihn erkalten lässt, kleine drusig verbundene Krystalle von Zucker aus. In der Trommerschen Probe reducirt dieser Zucker erst beim Kochen; durch Schwefel-

säure wird er nicht sogleich geschwärzt. Er verhält sich also ähnlich dem Rohrzucker. Macht man den Auszug mittelst Alkohols von circa 80 Proc., so erhält man keine Zuckerkrystalle beim Abdampfen, weil die Anwesenheit kleiner Mengen wässriger, nichtkrystallisirbarer Extractivstoffe, wie z. B. Gummi, dies verhindert. Das Gemenge dieses Alkoholextracts reducirt das Kupferoxyd schon bei 80°, enthält also neben dem krystallisirbaren Zucker noch Fruchtzucker. In einer sehr stark eingedampften Probe dieser Masse, welche ich mehrere Monate in einem Gefässe luftdicht verschlossen hielt, hatten sich zuletzt doch noch Zuckerkrystalle ausgeschieden.

Es ist auffallend und möchte sich schwer erklären lassen, dass das wässrige Extract kaum eine Spur Zucker enthält, während der Alkohol-Auszug sehr reich daran ist. Der Zucker müsste denn in besonderen Zellen sich befinden, deren Wandungen nicht dem Wasser, sondern erst dem Alkohol den Durchgang gestatten, indem sie selbst in letzterem löslich sind. Der Zucker hängt dem grünen Fett hartnäckig an; hebt man letzteres möglichst sorgfältig mit einer Pipette ab und wäscht es mehrmals mit Wasser, so giebt dieses noch lange eine Zuckerreaction.

Sowohl die Rückstände der alkoholischen als auch der wässrigen Extracte schmecken stark bitter, besonders die letzteren. Es ist daher die Gegenwart eines in Wasser und Alkohol löslichen Bitterstoffes zu vermuthen, der schwer oder nicht krystallisirbar ist und sonst keine charakteristischen Eigenschaften besitzt, da es mir nicht gelang, ihn zu isoliren.

Kocht man dieselbe Probe des *Sem. Lycopodii* mehrmals, etwa drei bis vier Mal, mit Alkohol aus, so enthalten die letzten Auszüge nur noch ein wasserhelles, geruchloses Fett, das beim Stehen an der Luft schwach gelblich wid. Es ist dasselbe, welches im

III. Aetherischen Extract enthalten ist.

Wenn durch Behandeln der Sporen mit Wasser, Kali-

lauge, Salzsäure und Alkohol dieselben den grössten Theil ihrer löslichen Bestandtheile verloren haben, so zieht Aether gewöhnlich noch eine verhältnissmässig nicht unbedeutende Menge eines farb- und geruchlosen fetten Oeles aus, das nach seiner Reindarstellung bald gelblich, trübe und sehr dickflüssig wird. Dabei scheidet sich ein festes Fett in Flocken aus, welches aber keine Aehnlichkeit mit dem im grünen Fett des Alkohol-Auszuges vorkommenden neuen Körper hat. Das Oel löst sich in kaltem Alkohol kaum, in erwärmtem aber leicht auf. Beim Erkalten desselben scheidet sich das feste Fett schnell aus.

Die quantitativen Verhältnisse der Alkohol- und Aether-Extracte sind folgende;

1) 2,359 Grm. bei 120° C. getrocknetes *Sem. Lycopodii* gaben, mit einem Ueberschuss von absolutem Alkohol wiederholt ausgekocht und abgedampft, 0,120 Grm. Extract, hauptsächlich aus dem grünlichen Fett bestehend. Dies ergiebt 4,48 Proc. des *Sem. Lycopodii*.

2) 5,530 Grm. trockner *Sem. Lycopodii* mit Alkohol, dem ein wenig Aether zugesetzt worden, mehrmals ausgekocht, gaben: 0,269 Extract oder 4,86 Proc., also im Mittel beider Versuche 4,52 Proc.

3) Von den oben erhaltenen 0,269 Grm. Extract waren 0,060 Grm. Zucker und 0,204 Grm. Fettsubstanz nebst dem neuen Körper. In 100 Theilen dieses zuletzt erwähnten Gemenges sind annäherungsweise 85 Procent Fett und 15 Proc. des neuen Körpers enthalten. Berechnet man diese sämtlichen Bestandtheile auf 100 Th. der lufttrockenen Sporen, so ergiebt sich ungefähr folgendes Verhältniss:

Zucker	4,084 Proc.
Fett	3,070 »
Neuer Körper . .	0,560 »

(Fortsetzung folgt.)