Mitteilungen aus dem pharmazeutisch-toxikologischen
Institut der Reichs-Universität Leiden.

5. Die Blausäure in der Gattung *Thalictrum*.

Von L. van Itallie.

(Eingegangen den 27. II. 1910.)

Vor einigen Jahren (diese Zeitschrift **243**, S. 553, 1905) habe ich einiges über das Vorkommen der Cyanwasserstoffsäure in *Thalictrum aquilegifolium* L. mitgeteilt. Diese Mitteilungen können jetzt einigermaßen ergänzt werden.

Thalictrum aquilegifolium L.

Die Verteilung der Blausäure in der Pflanze.

Wie früher mitgeteilt wurde, kann aus den Blättern und auch aus dem Stengel der Pflanze, nach Mazeration mit Wasser, ein Blausäure und Aceton enthaltendes Destillat erhalten werden, nicht aber aus der Wurzel. Die Cyanwasserstoffsäure sollte nicht in freiem Zustand, sondern nur gebunden anwesend sein.

Diese Mitteilungen müssen etwas berichtigt werden.

Untersucht man *Thalictrum aquilegifolium* zu verschiedenen Zeiten des Jahres, so sind die Ergebnisse nicht immer die gleichen.

Bei meinen fortgesetzten Untersuchungen hat sich ergeben, daß die Blausäure regelmäßig in freiem Zustande (event. schwach gebunden) nur in den Blättern vorkommt, und daß dieselbe in gebundenem Zustande angetroffen wird in den Blättern, den Nebenblättern, dem Stengel, der Blüte und dem Samen. In dem unterirdischen Teil findet sich Blausäure weder frei noch gebunden.

Die Untersuchungen wurden mikro- und makrochemisch angestellt.

Die Blätter von *Thalictrum aquilegifolium* sind zusammengesetzt, und zwar je nach der Varietät zweifach oder dreifach gefiedert. Bei der letztgenannten Varietät findet man meistens kräftigere Pflanzen, wie bei der erstgenannten. Der Blattstiel besitzt eine gut ausgebildete Scheide und ist dunkelviolettfarbig gefärbt. Dort, wo die Blattstielchen mit dem Stiel zusammentreffen, kommen drei Nebenblätter¹⁾ vor, und zwar zwei nach hinten, eins

¹⁾ Obwohl diese Organe nicht am Fuße der Blattspindel vorkommen, habe ich hier doch die Bezeichnung „Nebenblatt“ gebraucht.

nach vorn gekehrt. Auch bei den Verzweigungen jeder Ordnung der Stielchen zeigen sich die Nebenblättchen. Die Fiederblättchen sind größer als die der Varietät mit dreifach gefiederten Blättern und fühlen sich auch viel fester an. Bei der erstgenannten Varietät sind auch die Nebenblättchen viel kleiner und ist die Blattspindel nicht dunkelviolett gefärbt.

Abgesehen von den Blättern unterscheiden sich die verschiedenen Varietäten von *Thalictrum aquilegifolium* durch die Farbe der Blüten. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden meistens die weiß- und die rotblütige Varietät verwendet.

Der Bau der Blättchen ist bei den untersuchten Varietäten gleich. Die Epidermis der Ober- und die der Unterseite ist nicht behaart; beide besitzen Spaltöffnungen und bestehen aus dünnwandigen, unregelmäßig-welligen Zellen. Im Palisaden- und im Schwammparenchym kommen weder Krystallzellen, noch Idioblasten vor.

Die mikrochemische Untersuchung geschah nach der bekannten von Treub und Greshoff angegebenen Methode, indem die Blättchen verwundet wurden und, so vorbereitet, nacheinander in alkoholische Kalilauge, in warme Ferro-Ferrilösung und verdünnte Salzsäure gebracht wurden und schließlich das Chlorophyll mit Alkohol ausgekocht wurde. Statt der von Treub empfohlenen Stahlbürste, benutze ich vielfach zum Verwunden der Blättchen ein gezähntes Rädchen, wie von den Damen zum Abzeichnen von Patronen gebraucht wird.

Auch wurden von den Blättchen Querschnitte gemacht, welche mit den oben genannten Reagentien auf freie (event. schwach gebundene) Blausäure untersucht wurden.

Bei wiederholter Untersuchung ergab sich, daß besonders in den jungen Blättchen immer HCN angezeigt werden konnte, und zwar im Schwammparenchym. Selten gelang es, die Blausäure in den Geleitzellen des Phloems zu finden und nur ein einziges Mal zeigten sich Körnchen von Berlinerblau im Xylem der Nerven. Die Vermutung liegt auf der Hand, daß die Cyanwasserstoffsäure in diesen Fällen bei der Verwundung der Blätter aus dem Parenchym in das Phloem übergegangen ist.

Diese Vermutung findet auch eine Stütze in der Untersuchung der Blattspindel, der Blattstielchen und des Stengels. In keinem dieser Teile wurde auch nur ein einziges Mal Blausäure angetroffen. Die Untersuchung fand unter anderem statt, indem auf Quer- und Längsschnitten die mikrochemische Blausäureprobe angestellt wurde.

Auch die Nebenblättchen, Blütenblätter, Griffel und Narben wurden frei von nicht gebundener Blausäure befunden, so daß diese nicht nur in den Blättchen gebildet, sondern auch in gebundene Form übergeführt wird. In gebundenem Zustande wird sie über die verschiedenen oberirdischen Organe verteilt.

Die Ergebnisse der mikrochemischen Untersuchung wurden bestätigt, indem die betreffenden Pflanzenteile, gleich nach der Einsammlung, in dem Destillierkolben, auf bekannte Weise, mit kochendem Wasser übergossen und mit Dampf destilliert wurden. Auf diese Weise vorgehend, konnte nur aus den Blättern HCN gewonnen werden, und zwar betrug die Maximalmenge, welche erhalten wurde, berechnet auf das frische Blatt bei

der weißblütigen Varietät 0,030%

der rotblütigen Varietät 0,024%

Schon hier kann erwähnt werden, daß die weißblütige Abart sich bei meinen Versuchen immer reicher an Blausäure (auch in gebundenem Zustande) ergab, als die rotblütige Varietät.

Durch verschiedene Destillationsversuche konnte ermittelt werden, daß sich in den Blättern, den Blattspindeln und -Stielchen, den Blüten und den Samen gebundene, durch Mazeration mit Wasser freiwerdende Blausäure findet. In den unterirdischen Organen konnte, wie oben schon angegeben, keine Blausäure nachgewiesen werden.

Bei der weißblütigen Varietät konnten im Stengel und in der Blattspindel 0,013—0,028% HCN, in den Blüten 0,01% ermittelt werden. Da es sich hier um die Bestimmung von oft kleinen Mengen Blausäure handelte, so wurde diese Säure auch immer qualitativ durch die Berlinerblau-Reaktion nachgewiesen.

Die Auffindung der Cyanwasserstoffsäure in den Samen geschah mit den zu diesem Zwecke sehr geeigneten Reagenzpapieren, und zwar mittels Guajak-Kupfersulfatpapier, Aloin-Kupfersulfatpapier und Pikrinsäure-Sodapapier (nach Guignard). Nach meinen Erfahrungen ist das erstgenannte Papier das am meisten empfindliche. Wo die Blausäure bei der Mazeration mit Wasser der pulverisierten Samen erst allmählich abgespaltet wird, und das Papier vielfach erst nach mehreren Stunden eine Verfärbung zeigt, ist das Guignard'sche Papier aber viel zweckmäßiger als das Guajakpapier. Bei verschiedenen Versuchen fanden nicht nur die drei genannten Papiere, sondern auch das alkalische Phenolphthalin-Kupferpapier Anwendung. Die bei allen eintretenden Verfärbungen, lieferten den Beweis für die Anwesenheit der Blausäure in gebundenem Zustande in den Samen.

Die Menge der Blausäure zu den verschiedenen Zeiten des Jahres.

In zwei aufeinander folgenden Jahren wurden die Pflanzen auf die darin enthaltenen Mengen freier (event. schwach gebundener) Cyanwasserstoffsäure untersucht. Die Destillation geschah mittels Dampf, und zwar wurden die Blätter, zur Bestimmung der freien Blausäure, in dem geschlossenen Destillierkolben durch einen Scheidetrichter mit kochendem Wasser übergossen und nun sogleich Dampf eingeleitet. Die Einwirkung des anwesenden Enzyms wurde so wohl ziemlich ausgeschlossen.

Zu gleicher Zeit wurden zwei gleiche Portionen der Blätter, von derselben gut gemischten Partie herrührend, schnell kleingeschnitten und in zwei verschiedenen Kolben mit Wasser übergossen. Zu dem einen Kolben wurde auch noch etwas Emulsin hinzugefügt. Beide Kolben wurden verschlossen und die Mazeration 24 Stunden fortgesetzt. Dann wurde die abgespaltene Blausäure überdestilliert und als AgCN bestimmt.

Der Zweck dieser Versuche war nicht nur die Bestimmung der Mengen freier und gebundener Blausäure, sondern auch zu erforschen, ob die Menge des anwesenden Enzyms genügte, um die glucosidisch gebundene Blausäure abzuspalten. Wäre dieses nicht der Fall, dann mußte die Hinzufügung von Emulsin die Entwicklung einer größeren Menge Cyanwasserstoffsäure hervorrufen. In den meisten Fällen geschah dieses auch, und ein einziges Mal wurde sogar nach Zufügung von Emulsin die doppelte Menge Blausäure erhalten, als bei der Destillation ohne Emulsin, und zwar wurde hier die für *Thalictrum*blätter außerordentlich hohe Ziffer von 0,1% erreicht.

In einer Reihe von Versuchen, welche im Jahre 1908 mit den gleichen Pflanzen (rotblütige Varietät) angestellt wurden, sind folgende Ergebnisse erzielt:

Blätter gesammelt:	Direkte Destillation:	Destillation nach 24 stündiger Mazeration	
		ohne Emulsin:	mit Emulsin:
13. Juni	0,0227%	0,051%	0,101%
25. Juni	0,019%	0,049%	0,049%
23. Juli	0,0237%	0,053%	0,066%
7. September ..	0,0175%	—	0,041%
15. September ..	0,02%	0,033%	0,042%
Blattstiele und Stengel:			
23. Juli	—	0,004%	0,007%
7. September ..	—	0,006%	0,016%
15. September ..	—	Spuren	0,006%

Am 22. September wurden 50 g unterirdischer Teile (vornehmlich Beiwurzeln) feingeschnitten und mit Emulsin enthaltendem Wasser 24 Stunden mazeriert. Die darauf folgende Destillation lieferte ein Destillat, das weder die Berlinerblau-Reaktion, noch eine Verfärbung des Guajak-Kupfersulfatpapiers hervorrief.

Bei einer anderen Versuchsreihe im Jahre 1909 waren die Ergebnisse wie folgt:

Blätter gesammelt:	Destillation nach 24 stünd.			
	Direkte Destillation		Mazeration	
	weißbl. Var.	rotbl. Var.	weißbl. Var.	rotbl. Var.
3. Juni	0,016%	0,009%	0,038%	0,022%
9. Juni	0,021%	0,012%	0,040%	0,029%
10. Juni	0,015%	0,014%	0,034%	0,023%
9. September ..	0,017%	—	0,036%	—
			Nach Hinzufügung von Emulsin und Mazeration	
			0,042%	

Aus diesen Versuchen geht nach meinem Erachten hervor, daß der Einfluß der Jahreszeit auf den Blausäuregehalt bei *Thalictrum* innerhalb gewisser Grenzen gering ist. Das Verhältnis zwischen freier und gebundener Blausäure ist, wie sich auch aus Versuchen von Treub, Guignard u. a. bei anderen Pflanzenarten ergeben hat, von anderen Einflüssen abhängig. So von dem Alter der Blätter, der Beleuchtung usw. Von den vielen Versuchen, welche von mir bei *Thalictrum* angestellt wurden, will ich noch folgende hervorheben:

16. September. Gelbe Blätter: Weder freie, noch gebundene Blausäure.

16. September. Junge Blätter, aufgekomen an im Juli abgeschnittenen Pflanzen:

Freie Blausäure 0,030%

Gesamt-Blausäure 0,059%

Der Einfluß der Beleuchtung ergibt sich auch aus dem Folgenden: Blätter, welche 24 Stunden im Dunkeln verweilten, enthielten keine freie sondern nur gebundene Cyanwasserstoffsäure. Wurden die Pflanzen alsdann dem Lichte der Sonne ausgesetzt, so konnte nach wenigen Stunden mit der mikrochemischen Reaktion freie Blausäure nachgewiesen werden.

Bindungsform der Blausäure.

Wie ich früher schon mitteilte, kommt die Blausäure vermutlich in glucosidischer Bindung in *Thalictrum aquilegifolium*

vor, und zwar wahrscheinlich als Phaseolunatin, da unter den Spaltungsprodukten sich auch Aceton findet.

Es ist mir jedoch nicht gelungen, das Glucosid rein darzustellen. Wiederholte Male habe ich auf größere Mengen der Blätter die von Bourquelot u. a. für die Abscheidung der cyanogenen Glucoside angegebene Methode angewandt; ich erhielt aber nur nicht nennenswerte Mengen eines krystallisierten Körpers, nicht genügend zu einer weiteren Untersuchung. Auch Herr Bourquelot ist, wie er mir persönlich mitteilte, Schwierigkeiten bei der Darstellung der cyanogenen Glucoside, welche Aceton bei der Spaltung gaben, begegnet.

Die Cyanwasserstoffsäure gebenden Arten der Gattung *Thalictrum*.

Da sich ergeben hatte, daß die Samen des *Thalictrum aquilegifolium* einen Blausäure abspaltenden Bestandteil enthalten, benutzte ich die Samen anderer *Thalictrum*-arten, um das Vorkommen der Cyanwasserstoffsäure in diesen Arten festzustellen.

Untersucht wurden Samen der nachstehenden Arten.

Die Samen wurden pulverisiert und mit Wasser in kleine Kochflaschen gebracht, welche in dem Stopfen Guajak-Kupferpapier und Guignard's Papier enthielten. Nur mit den Samen von *Thalictrum aquilegifolium* und von *Th. angustifolium* trat innerhalb 24 Stunden Blausäure-Reaktion ein.

<i>Thalictrum alpinum</i> Linn.	<i>Thalictrum isopyroides</i> C. A. M.
„ <i>ambiguum</i> Schleich.	„ <i>japonicum</i> Thunb.
„ <i>angustifolium</i> Linn.	„ <i>javanicum</i> Bl.
„ <i>aquilegifolium</i> Linn.	„ <i>laserpitiiifolium</i> Willd.
„ <i>Chelidonii</i> D. C.	„ <i>macrocarpum</i> Gren.
„ <i>Cornuti</i> Linn.	„ <i>minus</i> Linn.
„ <i>corynellum</i> D. C.	„ <i>pauciflorum</i> Royle.
„ <i>Delavayi</i> Franch.	„ <i>petaloideum</i> Linn.
„ <i>dioicum</i> Linn.	„ <i>silvaticum</i> Bruegg.
„ <i>flavum</i> Linn.	„ <i>simplex</i> Linn.
„ <i>foetidum</i> Linn.	„ <i>sparsiflorum</i> Turcz.
„ <i>Fortunei</i> S. M.	„ <i>squarrosum</i> Steph.
„ <i>glaucum</i> Linn.	„ <i>tuberosum</i> Linn.

Leiden, Februar 1910.