

# Untersuchung über den Sitz der Alcaloide in der Cinchonarinde.

Von

**C a r l M ü l l e r.**

(Mit Taf. XXIII u. XXIV.)

Die Veranlassung zu der kleinen analytischen Arbeit, welche ich hierin der hohen Fakultät zur nachsichtigen Beurtheilung vorlege, waren die Untersuchungen Wigand's (Botan. Zeitung 1862, S. 137) über die Frage: Welches der Hauptzellenelemente der Cinchonarinde ist als Sitz der Alcaloide anzusehen?

Wigand's Versuche bestehen in Folgendem: Zur mikroskopischen Untersuchung geeignete Querschnitte der Rinde werden mit Cochenillelösung imbibirt. Es zeigte sich ihm hiebei eine Fixirung des Pigmentes und zwar hauptsächlich in der Wand der Bastzelle, während die Wand der Parenchymzellen einen geringen Grad der Farbstoffanhäufung zeigte. Der Querschnitt einer anderen Bastzelle des Hanfs oder Leins z. B. zeigte beim Imbibiren mit derselben Pigmentlösung keineswegs die Fähigkeit der Cinchonabastzelle, Farbstoffe zu fixiren. Wigand schliesst hieraus, es sei der Membran der Cinchonabastzelle ein Körper eingelagert, der, den Beizsalzen analog wirkend, Farbstoffe zu fixiren vermöge, und vermuthet diesen Körper in den Alcaloidsalzen.

Die Bestätigung dieser Voraussetzung findet er in folgendem Versuche. Die Cinchonarinde wird, vor der Behandlung mit Pigmentlösung, mit heissem Wasser ausgezogen, aus dem Auszug die Gerbsäure durch Eisenchloridlösung gefällt und das Filtrat (als reine Alcaloidlösung angesehen) dem Leinfaserquerschnitt aufgetragen. Bei nunmehriger Behandlung mit der Pigmentlösung zeigen die beiden Faserquerschnitte, der Cinchonarinde und des Leins, das entgegengesetzte Verhalten — die erschöpfte Faserwand der ersteren hat die

Fähigkeit Pigment zu fixiren verloren, die des letzteren hat sie gewonnen.

Wigand schliesst hieraus, es sei die Wand der Bastzelle der Hauptsitz des Alcaloids in der Cinchonarinde.

Bei Wiederholung des ersteren (den zweiten inducirenden) Versuchs gelang es mir auf keine Weise, mich davon zu überzeugen, dass es die Wand der Bastzelle sei, welche das Pigment in bevorzugter Weise sammle; im Gegentheil fand ich die Wand der Parenchymzellen, welche vor der Imbibition schon gelb oder braun gefärbt erschien, nach derselben jedenfalls intensiver gefärbt als die Bastzellenwand.

Ich schlug deshalb zur Lösung derselben Frage einen anderen Weg ein und zwar den der quantitativen Bestimmung des Alcaloids in beiden Zellenarten.

Folgende Betrachtungen, die mich leiteten, mögen wohl zeigen, dass derartige Analysen, abgesehen von der pharmacognostischen Bedeutung, geeignet sein dürften, die Entwicklungsgeschichte physiologisch interessanter Körper kennen zu lehren. — Der Chemiker, der mit Hülfe eines zusammengesetzteren Apparates einem chemischen Prozesse folgen will, untersucht nach dem Auseinandernehmen in Zeitabschnitten, die durch die analytischen Methoden gegeben sind, die in den verschiedenen Gefässen auftretenden Körper. Die Verbindung der gemachten Analysen derselben giebt ihm die Entwicklungsgeschichte vieler Vorgänge. Für die im Haushalte der Pflanze entstehenden Körper ist die Zelle der Entstehungsort; ein Complex vieler solcher gleichwerthiger oder ungleichwerthiger Zellen, das Organ, der Apparat, der dem Glasapparat des Chemikers zu vergleichen ist. Während indess bei letzterem die molecularen Wirkungen der Wand des Einzelgefässes von constantem Einfluss auf den Verlauf der chemischen Vorgänge im Innern sind, welche meist vernachlässigt werden können; wirken die molecularen Kräfte der Gefässwand des Pflanzenorgans jedenfalls im höchsten Grade bedingend und regelnd auf die Vorgänge im Innern des Raumes, der von Zellwand umschlossen, denn es entsteht und wächst diese Wand auf Kosten der im Zellinnern dargestellten Körper und zeigt, je nach verschiedenen Alterzuständen, verschiedene Permeabilität für in der Intercellularflüssigkeit gelöste Körper.

Wollte man, wie der Chemiker, durch Auseinandernehmen und Zerlegen des complicirteren Apparates, Organ, in seine verschiedenen Einzelgefässe, Zellen, eine Lösung des chemischen Theils der

Fragen über den Aufbau der Pflanze aus den Rohnahrungsstoffen, Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, Salpeter- und Phosphorsäure, Erd- und Alkalisalze etc. erlangen, so böte gerade die nothwendige Berücksichtigung der Verhältnisse der Permeabilität von Membranen ungleicher Zellen für verschiedene gelöste Körper die grösste Schwierigkeit. In vielen Fällen wird dieser Weg geradezu unmöglich sein, selbst wenn eine genaue Kenntniss der Körper vorhanden wäre, welche die plastischen Gemische Protoplasma und Zellflüssigkeit constituiren.

Für einige Fragen indess wird der angedeutete Weg sich vortheilhaft betreten lassen, ich glaube für die Beleuchtung der Entwicklungsgeschichte von Körpern, die unzweifelhaft in den Intercellularflüssigkeiten entstanden, sich der Zellmembran bestimmter Zellen einlagern und von dieser, Lösungsmitteln gegenüber, mehr oder weniger hartnäckig zurückgehalten werden.

Die Cinchonabasen sind derartige Körper. Als stickstoffhaltige Körper stehen sie in einer Beziehung zu den stickstoffhaltigen Nahrungsmitteln, welche die Pflanze dem Boden entnimmt. Welcher Art diese Beziehung, geht aus den bisherigen Untersuchungen nicht hervor. Da indess diese Alcaloide leichter chemisch rein dargestellt werden können als viele der Körper, welche beim Aufbau oder der Desorganisation pflanzlicher Organe eine Rolle spielen, so dürfte die Kenntnissnahme von ihrer Entwicklungsgeschichte vielleicht nicht unmöglich sein und damit die Entscheidung der Frage: Entstehen solche Körper direct aus den Rohnahrungsstoffen, Kohlensäure, Salpetersäuresalze und Wasser, ehe dieselben in dem Zustande der eiweissartigen Körper des Protoplasma angekommen, oder sind sie Producte einer rückschreitenden Metamorphose letztgenannter Körper?

Eine Frage, deren Beantwortung von nicht geringer Bedeutung für den Chemiker sowohl wie für den Pflanzenphysiologen wäre.

Nothwendig zu erfüllende Bedingung zur Möglichkeit einer derartigen Untersuchung ist natürlich das Entnehmen des Materials von einem und demselben lebenden Individuum, eine Bedingung, deren Herstellung für diesen Fall, wegen der Seltenheit lebender Cinchonon in Europa schwer zu bewerkstelligen ist.

Nach dem Gesagten ist einleuchtend, dass eine möglichst directe Methode der Bestimmung der Alcaloidmengen in je einem Zellenelement der fertigen Rinde das erste Erforderniss ist, und soll diese kleine Arbeit zeigen, dass demselben auf dem Wege der quantitativen Analyse genügt werden kann. Die Aufgaben, die ich mir hiebei stellte, waren:

a) Trennung der (in der auf geeignete Weise zerkleinerten Rinde) enthaltenen Hauptzellenelemente, auf einem Wege, der die Möglichkeit einer Vertheilung durch lösende Flüssigkeit der in den Membranen abgelagerten Stoffe total ausschliesst.

b) Nach Herstellung vollkommen reiner Massen der einzelnen Zellentheile, möglichste Erschöpfung derselben und genaue Wägung des erhaltenen Alcaloids.

Ehe ich zur Beschreibung der angewandten Methode übergehe, seien einige Worte über den Bau der untersuchten Rinde gesagt. Es war diese eine sehr reiche Calysarinde des Handels (unbedeckt in Platten), in welcher man, da die Borken und Korktheile schon beim Sammeln abgesprengt werden, den bastreichsten, einerseits an das Cambium grenzenden Theil älterer Axentheile hat. Die noch anhängenden Theile der harten Borke können leicht durch das Messer von den Platten entfernt werden.

Im transversalen Schnitt erscheinen die Bastzellen vereinzelt oder in 2—3zähligen Bündeln gleichmässig zerstreut gestellt. In Längsschnitten zeigen sie sich fast vollständig isolirt; nur an den Spitzen berühren sich benachbarte Bastzellen. Geht der Schnitt in der Richtung d Fig. 2, so erscheinen sie auf dem Querschnitt in Bündeln gestellt und von ungleichem Durchmesser, wenn die Ebene des transversalen Schnitts für eine Bastzelle näher ihrer Spitze liegt als für die andere. c. c. Fig. 1.

Das Zerstreutstehen der Bastzellen, der lockere Verband untereinander und die grosse Differenz der Massen zwischen der Bastzellen- und Parenchymzellen-Membran boten mir die Mittel der möglichsten Trennung beider. Ob das specifische Gewicht der Membranmassen beider Zellenarten ein verschiedenes, habe ich bis jetzt noch nicht ermittelt.

#### Methode der Zerkleinerung.

Möglichst grosse und von den anhängenden Borkentheilen befreite Platten wurden in der Richtung der Axe gehobelt, nachdem durch Vergleichung der bei verschiedener Stellung der Hobelschneide erhaltenen Späne mit der Dicke der isolirten Bastzelle, die Dicke ermittelt war, welche etwa der der letzteren entsprach. Die gesammelten Späne wurden in einer mit Glasstöpsel verschliessbaren Flasche durch Schütteln mit blanken Eisendrahtspiralen möglichst zerkleinert, sodann mit reinem gleichkörnigen Flusssand so lange geschüttelt, bis mehrere Proben, mikroskopisch untersucht, die Parenchymzellen zertrümmert, die Bastzellen isolirt, aber intact zeigten. Durch die



leichte Zerreiblichkeit der dünnwandigen trocknen Parenchymzelle und die Zähigkeit der Bastzelle ist es leicht durch den Sand die Bastzelle von den anhaftenden Parenchymtrümmern rein abzureiben. Ich zog indess vor, der ersteren eine dünne Schicht der Zellwände zu belassen, welche den dichtanliegenden Parenchymzellen angehörte, um sicher zu sein, dass der reibende Sand die Membran der Bastzelle noch nicht angegriffen habe und sich in dem feinen Pulver, das aus den Trümmern der Parenchymzelle bestand, noch keine abgeriebenen Basttheile befinden.

Die dadurch nothwendige Verunreinigung der Bastzelle durch anhaftende Parenchymwandungen war eine geringe, machte sich indess doch geltend, wie wir bei Bestimmung des Chiningehältes sehen werden.

Der in Fig. 3 abgebildete Apparat diente nun dazu, die Parenchymtrümmer von den isolirten nicht zertrümmerten Bastzellen zu trennen. Die grosse Retorte A wird durch Vorstoss' und Cautchouverband mit der in der Retorte C mündenden Glasröhre verbunden; C steht durch die 2mal gebogene Glasröhre t mit dem Gefäss D in Verbindung. Letztere Röhre wird in D durch Wasser abgesperrt. Nachdem das Gemisch aus Sand und Rindentrümmer durch den Tubulus mit möglichster Schonung in die Retorte A gegeben, wurde dem Tubulus eine Glasröhre eingefügt, welche einerseits nahe über dem Pulver mündete, andererseits durch den Cautchousschlauch E mit dem Blasebalg einer Glasbläserlampe verbunden war.

Sobald durch Antreten des Blasebalgs Luftstösse auf das Pulver gegeben wurden, entstand eine Trübung in dem Wasser des Gefässes D durch die übergeführten leichten Trümmer. Es kam nun darauf an, solche Luftstösse anzuwenden, welche nach D nur Parenchymtrümmer und keine Bastzellen überführten. Ich untersuchte deshalb, nach stufenweise verstärkten Stössen, den Niederschlag in D mikroskopisch und fand denselben auch bei den stärksten Luftstössen, welche der Blasebalg erlaubte, nur aus Parenchymtrümmern bestehend.

Nachdem ich mich somit von der Brauchbarkeit meines Apparates überzeugt hatte, wurde das Pulver in A durch stärkste Luftstösse vollständig ausgestäubt, und nachdem die eingepresste Luft im Innern sich mit der Atmosphäre ins Gleichgewicht gestellt, der Apparat von D an auseinandergenommen. Die in die Retorte C, Röhre E, Vorstoss B und Retortenhals A geführten Staubtheile wurden nun in kleinen Pröbchen mikroskopisch untersucht. Es ergaben sich in F u. B fast reine Parenchymtrümmer, B u. A Gemische von wechselndem Bastgehalt und Parenchym, im Rückstand reiner Bast und Sand.

Rückstand A wurde zurückgelegt. F u. B zurückgelegt (1) — Gemisch von B u. A, in den Bauch der Retorte A gegeben, auf die beschriebene Weise ausgestäubt, — die Staubtheile in F u. B (1 a) nach Auseinandernehmen des Apparates zu 1 gegeben, die von B u. A, in A gegeben, wiederum ausgestäubt, Theile in F u. B (1 b) zu 1 u. 1 a gegeben; alsdann 1, 1 a u. 1 b in A derselben Manipulation unterworfen und dieses Fractioniren, begleitet von einer mikroskopischen Untersuchung der übergehenden Trümmerpartien, so lange fortgesetzt, bis eine vollständige Trennung der beiden Theile herbeigeführt, bis die aus A zurückgelegten reinen Bast, die aus F u. B zurückgelegten Theile reine Parenchymtrümmer ergaben. Durch dieses Verfahren ist einem Verlust durch Verstäuben möglichst vorgebeugt. Dem Wasser in D setzte ich, um das heftige Schäumen beim raschen Durchgang der Luftblasen zu vermeiden, von Zeit zu Zeit etwas Alkohol zu, und vermied dadurch auch hier jeden Verlust der im Wasser suspendirten Parenchymtrümmer. Ein gewisser Verlust des Untersuchungsmaterials lässt sich indess nicht vermeiden; es entsteht derselbe dadurch, dass bei dem Gemisch von Bast und Parenchymtrümmern bei den letzten Rückständen ein Punkt eintritt, wo aus A immer Gemische nach B übergehen, wenn die Quantitäten des zu fractionirenden Gemisches geringe sind; solche mussten daher, nachdem sie gewogen, von der weiteren Untersuchung ganz ausgeschlossen und zurückgelegt werden. Kleinere Verluste durch Herstellung befeuchteter mikroskopischer Präparate waren natürlich nicht zu umgehen.

#### Ausziehen der Rindentrümmern.

Um eine äusserste Erschöpfung der Rindentheile möglich zu machen und die Genauigkeit der Wägungen zu steigern, zog ich vor, mit kleinen Quantitäten zu arbeiten. Bei der grossen Schwierigkeit, welche dem Crystallisiren kleiner Mengen des Hydrates oder Schwefelsäuresalzes entgegenstehen, war ich gezwungen, das amorphe Chininhydrat  $C_{40} H_{24} N_2 O_4 \cdot 6 HO$ , bei  $100^\circ$  getrocknet, für alle drei Analysen, resp. der der ganzen Rinde, der des Bastes und der des Parenchyms der Wägung zu unterwerfen. Die Darstellung des crystallirten Hydrats oder Salzes hätte die Anwendung grosser Rindmassen bedingt, welche aber der Genauigkeit der Bestimmung dadurch Abbruch gethan haben würde, dass das Auswaschen der Rinde der Fällungsrückstände und der Knochenkohle bedeutend erschwert worden wäre.

Der auszuziehende Rindentheil wurde mit verdünnter Schwefelsäure ( $SO_3 HO$  1 Th. u. 12 Theile Wasser) zu einer teigigen Masse

angeknetet, 24 Stunden macerirt; hiernach mit gleichkörnigem Sand gemischt in eine Realsche Presse gegeben und zuerst mit kaltem, später mit heissem, schwefelsäurehaltigem Wasser vollständig erschöpft. — Die Realsche Presse, für kleine Mengen derartiger Substanzen, construirte ich leicht aus Retortenvorstössen oder den Hälften zerbrochener Retorten oder Kolben, denselben an beiden Enden durchbohrte Korke einfügend, von denen einer die lange Druckröhre, der andere die Abflussröhre umschliesst; letztere wird mit einem Baumwollenbausch lose verstopft. Ward die Presse von der auszuziehenden Substanz nicht ganz erfüllt, so gab ich in den leeren Raum bis zur Mündung der Druckröhre grobkörnigen, reinen Quarzsand.

Die möglichste Erschöpfung des Rindentheils wurde angenommen, als eine Probe der ablaufenden Flüssigkeit keine Fluorescenzerscheinung mehr zeigte und mit Chlorwasser und Ammoniak keine grüne Farbe mehr annahm. Zur Vorsorge wurde selbst nach diesem Zeitpunkt das Waschen noch einige Zeit fortgesetzt.

Die vereinigten sauren Auszüge eines Rindentheils mit gebrannter Magnesia gesättigt (Magnesia im Ueberschuss zugegeben), wurden im Wasserbad sammt dem entstandenen Niederschlag eingedampft; der möglichst trockene Rückstand in einem geeigneten kugeligen Glasgefäss, mit Tubulus einerseits und durch Glashahn verschliessbarer Abflussröhre andererseits, mit Aether sorgfältigst ausgewaschen. Die aetherische Lösung hinterliess nach Abdestilliren des Aethers eine harzartige amorphe Masse, das Chininhydrat, welches in alcoholhaltigem Wasser aufgenommen, mit Knochenkohle wiederholt behandelt wurde, bis es möglichst entfärbt bei 100° getrocknet und zerrieben ein grauweisses Pulver darstellte, in welchem Zustande es gewogen wurde.

In einer Rinde, welche 4,58% Chininhydrat enthielt, wurde gefunden:

125 grmes angewandte trockene Rinde, in der Bast und Parenchymtrümmer getrennt, ergaben

86,682 Bastzellen,

30,639 Parenchymtrümmer,

4,354 (zurückgelegtes Gemisch von Parenchym und Bast),

121,675

3,325 Verlust durch mikroskop. Präparation und Verstäuben

grmes 125,000

In 30,639 grmes Parenchym 3,026 grmes Chininhydrat, was für 100 Theile 9,876 ergibt. } Parenchym 9,876 %/o



In 86,682 Bast 2,134 grmes Chininhydrat, was }  
für 100 Theile 2,462 ergiebt. } Bast 2,462 %

Diese Zahlen zeigen, dass gerade die Parenchymzelle den höchsten Procentgehalt an Chinin hat, derselbe ist nahe das 4fache der Bastzelle. Nun aber erwähnte ich, dass der isolirten Bastzelle noch eine dünne Hülle belassen blieb, bestehend aus Theilen der Parenchymzellwand; wäre es erlaubt gewesen, diese zu entfernen, so würde sich der Unterschied zu Gunsten der Parenchymzelle jedenfalls grösser ergeben haben. Mein Zweifel an der Richtigkeit der Wigand'schen Beobachtung ist mithin gerechtfertigt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind denen der Wigand'schen vollkommen entgegengesetzt. Denn einmal ergab sich die Parenchymzelle als die alcaloidreichste, während Wigand jeglichen Alcaloidgehalt abspricht, und ferner ist die Bastzelle ebenfalls alcaloidhaltig, wenn auch nicht in so hohem Grade. Wollte man annehmen, eine einzige Zellenart der fertigen Rinde alter Axentheile sei der Sitz der Alcaloide, so ergäbe sich derselbe nach meiner Untersuchung in der Parenchymzelle, und der im Bast gefundene Alcaloidgehalt wäre dadurch zu erklären, dass demselben eine nothwendige Verunreinigung mit den Parenchymtrümmern belassen werden musste. Es müsste diese Verunreinigung derart gewesen sein, dass auf 86 Theile des angewandten Bastes ungefähr 25 Theile Parenchym gekommen wären, wenn man die Bastzelle als absolut alcaloidfrei ansieht. Es ist indess sicher, dass den angewandten Bastzellen höchstens 8—10 % Parenchym beigemischt waren, und demgemäss der Bastzelle ein, wenn auch nur geringer, Alcaloidgehalt zugestanden werden muss.

Eine zweite Frage, welche Wigand in seiner Arbeit anregte, ist die: „Welches ist der Entstehungsort der Alcaloide?“

Wigand ist der Ansicht, es müsse dies der Ort sein, an welchem man das Alcaloid in grösster Menge antreffe, es wäre nach seiner Untersuchung die Bastzelle, nach der meinigen die Parenchymzelle. Eine Hauptstütze findet Wigand in dem Erfahrungssatze: Junge Rinden, d. h. Rinden jüngerer Axentheile, welche stets bastärmer als ältere Rinden, sind auch stets alcaloidärmer als letztere, und diejenigen Rinden die reichsten, auf deren Bruch oder Querschnitt die Bastzellen allseitig gleichmässig zerstreut erscheinen (Fig. 1). Die Richtigkeit dieses Erfahrungssatzes ist nicht zu bezweifeln, doch sehe ich in ihm nichts, was zu Gunsten der Wigand'schen Anschauung spricht. Der Satz sagt einfach, es besteht eine Beziehung zwischen dem Alcaloidgehalt der Rinde und deren Gehalt an Bastzellen, und zwar fängt der Alcaloidgehalt der Rinde



an zu wachsen, wenn das Cambium des Axentheils beginnt Bastzellen zu bilden. Dieses ist Alles, was sich aus dem Erfahrungssatz schliessen lässt. Ob in der jungen Rinde in der jugendlichen Bastzelle der Heerd der Alcaloidbildung sei und die Parenchymzellen das gebildete Alcaloid vorzugsweise in sich einlagern, oder ob umgekehrt die Bastzelle in niederem Grade das in der Parenchymzelle gebildete Alcaloid in ihre Wand einlagere. ist durch die Arbeiten, die bisher für diese Fragen angestellt, nicht entschieden.

So viel steht durch meine mit grosser Sorgfalt angestellte Scheidung der beiden Zellenelemente fest, dass in der Rinde alter Stammtheile, das Parenchym die Zellenart ist, welche den höchsten Procentgehalt an Alcaloid zeigt; auch glaube ich die beschriebene Methode, für Rinden verschiedener Alterszustände angewandt, als diejenige ansehen zu dürfen, welche die Entscheidung der letztgenannten Frage herbeiführen kann. — Ebensowenig wie wir annehmen dürfen, dass in den Zellen oder Organen der Pflanzen, in welchen wir Amylum abgelagert finden, dasselbe auch immer entstanden sei, haben wir das Recht, die Alcaloide in der Zellenart entstanden anzunehmen, in welcher wir sie in der fertigen Rinde hauptsächlich angesammelt finden.

Die Entscheidung der nächstliegenden Frage zur Lösung der genannten: „In welchen Zellentheilen der jüngsten Rinde tritt das Alcaloid zuerst auf?“ werde ich zu unternehmen versuchen, sobald ich im Besitze des Rindenmaterials bin, welches den Anforderungen derartiger Untersuchung entspricht.

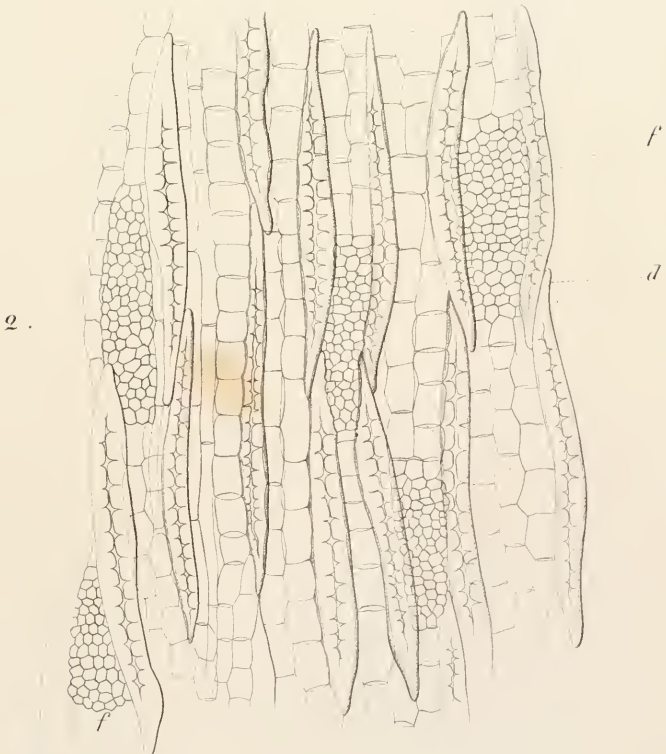
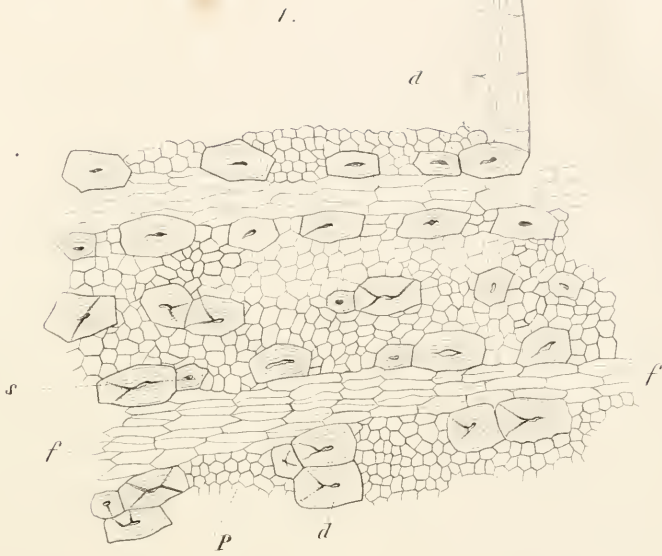
Heidelberg den 1. Februar 1866.

## Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Kleine Partie eines transversalen Schnittes durch eine Calysayrinde. e Bastzellengruppe. ff Markstrahl. P Rindenparenchym. d Längsansicht einer isolirten Bastzelle. Vergrösserung  $180/1$ .

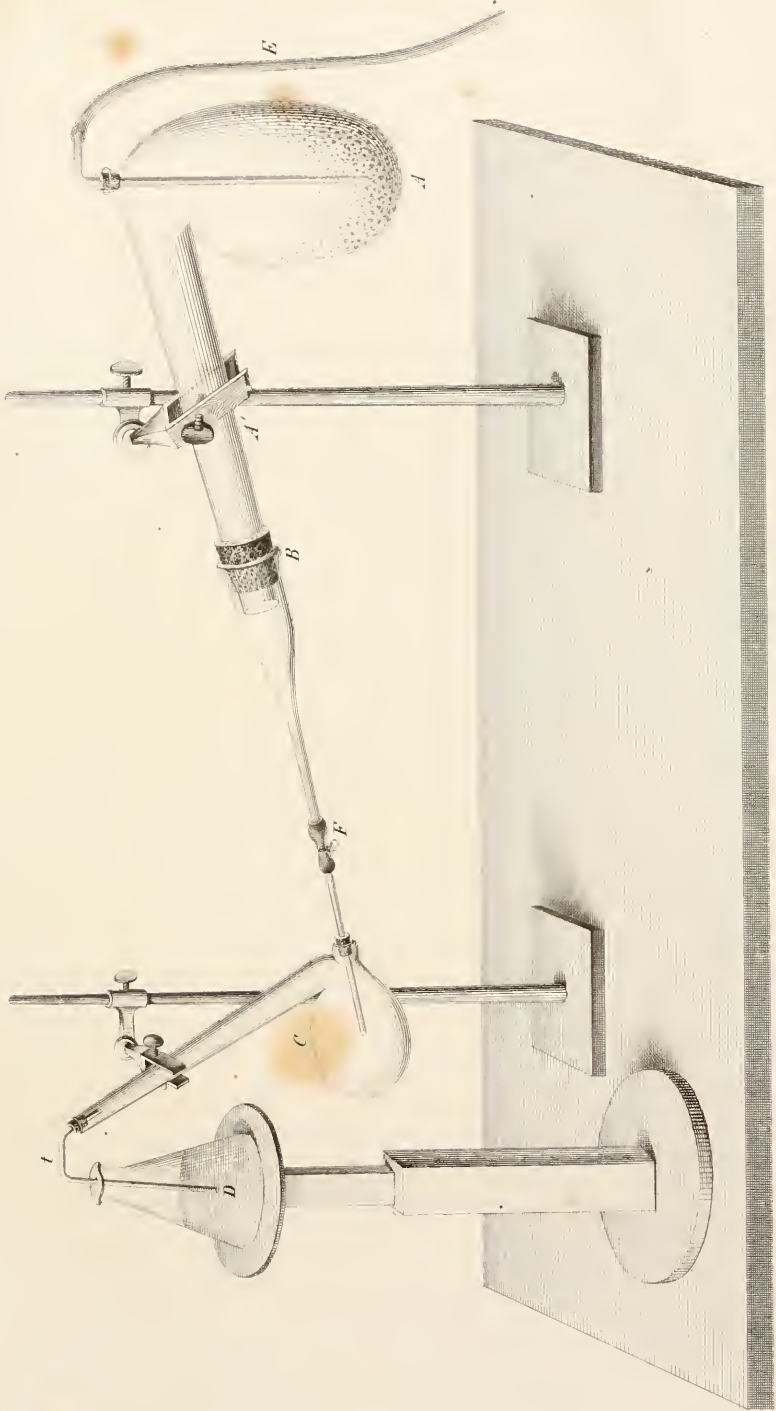
Fig. 2. Partie eines tangentialen Schnittes derselben Rinde. f Markstrahl. d Bastzelle.

Fig. 3. Der im Text beschriebene Apparat zur Trennung der Rindentrümmer. Cautchouschlauch E führt nach dem Blasebalg einer Glasbläserlampe.









# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik](#)

Jahr/Year: 1866-1867

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Müller Carl

Artikel/Article: [Untersuchung über den Sitz der Alcaloide in der Cinchonarinde. 238-246](#)