

57. Werner Wöhlbier und Siegfried Beckmann: Über die Inhaltsstoffe des Sumpfschachtelhalms (*Equisetum palustre*).

[Aus dem Chemischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim.]

(Eingegangen am 20. Februar 1950.)

Aus *Equisetum palustre* wurden 2 Alkaloide isoliert, das Equisetin, welches durch eine Anzahl Derivate charakterisiert wurde, und das Equisetonin, das nur in sehr geringer Menge gewonnen werden konnte. Ferner wurde das Vorhandensein mindestens einer dritten Base und einiger nichtbasischer Stoffe festgestellt, die z. Tl. identifiziert wurden.

Der Sumpfschachtelhalm oder Duwock gehört, besonders wegen seiner Giftigkeit für das Milchvieh, zu den lästigsten Unkräutern. Seine Schädlichkeit und seine Bekämpfung nehmen daher in der Literatur einen breiten Raum ein¹⁾. Die erste chemische Untersuchung des Sumpfschachtelhalms stammt von J. Lohmann²⁾, der u. a. wahrscheinlich machen konnte, daß die Giftigkeit des Duwocks auf das Vorhandensein eines Alkaloids zurückzuführen sein dürfte. Vor etwa 16 Jahren haben Wöhlbier und Mitarbb. in einer vorläufigen Mitteilung die Gewinnung eines Alkaloids, des Equisetins, als Pikrat und als Goldsalz, allerdings in sehr geringer Menge, bekanntgegeben³⁾. Aus zeitbedingten Gründen konnten die Arbeiten nur unter großen Schwierigkeiten und mit jahrelangen Unterbrechungen fortgesetzt werden. Unterdessen erschien eine Mitteilung von E. Glet, J. Gutschmidt und P. Glet⁴⁾, in der die Isolierung eines Alkaloids aus dem Duwock beschrieben wurde. Beim Vergleich der kurzen Angaben dieser Autoren mit unseren Befunden schien es offensichtlich, daß ihr Alkaloid entweder nicht rein war, oder bei der hohen Temperatur der Hochvakuumdestillation eine Zersetzung erlitten hatte. Vor einiger Zeit erschien nun eine Veröffentlichung von P. Karrer und C. H. Eugster⁵⁾, die uns erst sehr verspätet durch ein Referat bekannt wurde. Das Alkaloid, das diese Autoren auf etwas anderem Wege als wir aus dem Sumpfschachtelhalm gewonnen haben, zeigt eine weitgehende Übereinstimmung mit dem von uns dargestellten Hauptalkaloid dieser Pflanze. Trotzdem unsere diesbezüglichen Arbeiten fortgesetzt werden, halten wir es daher für angezeigt, unsere bisher gewonnenen Ergebnisse zu veröffentlichen.

Was die Benennung des Hauptalkaloids betrifft, so möchten wir den schon 1904 von Lohmann²⁾ vorgeschlagenen und seitdem, besonders in der botanischen und landwirtschaftlichen Literatur fest eingebürgerten Namen Equisetin beibehalten, obwohl Karrer und Eugster den von Glet ohne zwingenden Grund vorgeschlagenen neuen Namen „Palustrin“ übernommen haben.

Zur Gewinnung des Equisetins aus dem Duwock sind eine Reihe von Verfahren versucht worden: Extraktion in alkalischer Lösung mit Chloroform oder Äther, Extraktion mit Alkohol in weinsaurer oder schwach salzsaurer Lösung, Fällung mit Kieselwolframsäure oder Phosphorwolframsäure nach erfolgter saurer Extraktion. Mit Kieselwolframsäure werden die Alkaloide des Duwocks übrigens nur sehr unvollkommen gefällt. Schließlich sind wir bei folgendem Arbeitsgang geblieben, der recht befriedigende Ausbeuten liefert und auch aus Gründen des Arbeitsaufwandes und der Kosten tragbar erscheint: Extraktion

¹⁾ Literaturzusammenstellung: H. v. Freyberg, Biedermanns Zbl. Agrikulturchem. A [N. F.] 5, 180 [1935].

²⁾ Arbeiten der Dtsch. Landw. Ges. 100, 1 [1904].

³⁾ W. Wöhlbier u. H. v. Freyberg, Ergebnisse d. Agrikulturchem. 4, 171 [1935]; W. Wöhlbier, Chem.-Ztg. 58, 593 [1935].

⁴⁾ Ztschr. physiol. Chem. 244, 229 [1936].

⁵⁾ Helv. chim. Acta 31, 1062 [1948].

mit 3-proz. Salzsäure, Abpressen des Extraktes, Alkalisieren mit Natriumcarbonat und Ausschütteln mit Chloroform. Der Rohextrakt wird dann, wie im Versuchsteil beschrieben, zum Dihydrochlorid der Base aufgearbeitet. Aus dem vollkommen reinen Dihydrochlorid wurde das freie Equisetin, $C_{17}H_{29}O_2N_3$, in reinem krystallisierten Zustande erhalten und durch das Monohydrochlorid, Pikrat und Chloraurat charakterisiert. Die Ausbeute an reinem Equisetin betrug 0.01 bis 0.02% des trockenen Ausgangsmaterials. Dieser Wert ist als Minimalwert zu betrachten, da beim Aufarbeiten des Pflanzenmaterials und bei der Reinigung der Rohextrakte Verluste unvermeidlich sind.

Das Equisetin ist ungesättigt; soda-alkalische Permanganat-Lösung wird sofort entfärbt. Den Befund von Karrer und Eugster, daß das eine N-Atom stark basisch, das zweite schwach basisch und das dritte überhaupt nicht basisch ist, können wir bestätigen; bei der Titration mit Phenolphthalein als Indicator wird nur eine basische Gruppe erfaßt, mit Methylrot dagegen zwei basische Gruppen. Durch Behandeln des Dihydrochlorids mit Natriumhydrogencarbonat gelang es ein Monohydrochlorid der Base zu erhalten, das im Gegensatz zum Dihydrochlorid in Chloroform löslich, in Äther aber ebenfalls unlöslich ist. Daher kann das Equisetin auch aus schwach alkalischer Lösung, deren OH-Ionen-Konzentration zum Freimachen der ziemlich starken Base selbst nicht ausreicht, dennoch mit Chloroform als Monohydrochlorid praktisch vollständig extrahiert werden.

Als Salz ist das Equisetin auch in Lösung recht beständig. Im Schachtelhalm liegt es vermutlich an Aconitsäure gebunden vor. Schon Braconot⁶⁾ konnte in verschiedenen Schachtelhalmarten Aconitsäure nachweisen. Auch wir erhielten aus den sauren Extraktionslösungen nach Entfernung der Basen beträchtliche Mengen Aconitsäure. Bei lufttrockenem Schachtelhalm, der jahrelang (bis zu 8 Jahren) aufbewahrt worden war, konnte keine merkliche Abnahme des Equisetiningehaltes beobachtet werden. Beim Kochen mit 20-proz. Salzsäure wird das Hydrochlorid allerdings verändert: es bildet sich eine helle harzige Masse, die nicht zum Krystallisieren zu bringen ist.

Gegen Alkalien erwies sich das Equisetin wider Erwarten verhältnismäßig beständig. Bei 3-stdg. Erwärmen auf dem Wasserbade mit Alkalien tritt nicht einmal Racemisierung ein. Die früheren Beobachtungen, daß sich beim Behandeln der konzentrierten Rohextrakte mit stärkerem Alkali Zersetzungserscheinungen bemerkbar machen, dürften demnach nicht auf das Equisetin, sondern eine andere, im Rohextrakt enthaltene Base zurückzuführen sein.

Bei der Oxydation mit Permanganat in alkalischer Lösung wurden Reaktionsprodukte erhalten, die auf einen tiefgehenden Abbau hindeuten: Ammoniak, Kohlendioxyd, reichlich Oxalsäure, etwas mit Wasserdampf flüchtige Säuren, sowie nichtflüchtige, in Wasser leicht, in organischen Lösungsmitteln schwer lösliche Säuren, deren Untersuchung noch nicht abgeschlossen ist.

Die physiologische Prüfung des Equisetins, die seinerzeit mit noch nicht ganz reinem Alkaloid an Mäusen vorgenommen wurde⁷⁾, ergab ein ähnliches Vergiftungsbild, wie es Karrer und Eugster⁵⁾ beschrieben haben: zuerst starke Erregung, dann lähmungsartige Erscheinungen, Krämpfe, Tod durch Atemlähmung. Bemerkenswert ist, daß bei Injektionen nicht tödlicher Mengen rasche Erholung der Versuchstiere eintritt.

⁶⁾ Ann. Chim. Phys. 39, 1 [1828]. ⁷⁾ Vergl. a. Starke, Dissertat. T.H. Dresden, 1941.

Aus den Mutterlaugen des Equisetin-dihydrochlorids konnte ein zweites Alkaloidsalz isoliert werden. Dieselbe Base konnte dann auch in einem Ätherauszug festgestellt werden, der beim Reinigen des rohen Equisetins abfällt. Ihre Gesamtmenge war sehr gering und betrug etwa 0.0002 % des lufttrockenen Schachtelhalmes. Das Hydrochlorid des neuen Alkaloids, das wir Equisetonin nennen wollen, zersetzt sich bei 220° und dürfte die Zusammensetzung $C_{18}H_{31}O_4N_3 \cdot HCl$ haben. Das Equisetonin ist eine schwache, farb- und geruchlose, feste Base.

Beim Reinigen der sauren Rohextrakte fallen sowohl bei Zugabe von Natriumhydrogencarbonat, als auch von Alkalihydroxyden rothbraune klebrige Harze aus, die – wie aus ihrem beträchtlichen N-Gehalt hervorgeht – ebenfalls Basen enthalten, die in Wasser offenbar schwerlöslich sind. Es ist möglich, daß es sich hierbei um Equisetonin handelt; wahrscheinlich liegt hier aber noch eine andere, etwas stärkere Base vor.

Als Begleiter des Equisetonins, das selbst geruchlos ist, findet sich in den Mutterlaugen des Equisetin-dihydrochlorids eine nicotinartig riechende Base. Ferner konnte aus dem Chloroformauszug, der beim Reinigen der salzsauren Rohalkaloid-Lösungen anfällt, ein Basengemisch erhalten werden, in welchem ebenfalls die nicotinartig riechende Base vorhanden ist.

Aus demselben Chloroformauszug wurde ferner außer dunkelgrünen und roten Farbstoffen und einem Säuregemisch noch ein in Aceton relativ schwerlöslicher farbloser Neutralstoff von der wahrscheinlichen Zusammensetzung $C_{17}H_{32}O$ erhalten, dessen nähere Untersuchung noch aussteht.

Bei der Wasserdampfdestillation des durch Extraktion mit 3-proz. Salzsäure von Basen befreiten Pflanzenmaterials wurde eine geringe Menge eines charakteristisch riechenden ätherischen Öles gewonnen, das sich noch in Untersuchung befindet. Ferner ging dabei auch Palmitinsäure über.

Beschreibung der Versuche.

Das Pflanzenmaterial (*Equisetum palustre*) stammte teils aus der Umgebung von Rostock, teils aus der Wesermarsch. Es war durchweg im Spätsommer (Juli–August) gesammelt und wurde in lufttrockenem Zustand (10–15% Wasser) aufbewahrt und verwendet. Es wurde sowohl Pflanzenmaterial der Jahresernte, als auch solches, das bis zu 8 Jahren aufbewahrt worden war, verarbeitet. Ein irgendwie auffallender Unterschied im Alkaloidgehalt konnte dabei nicht beobachtet werden. Eine allgemeine Futtermittelanalyse ergab folgende Zusammensetzung:

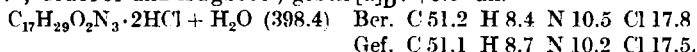
Wasser	14.0 %	Rohfaser	18.5 %
Asche	23.3 %	Rohfett	1.7 %
Rohprotein	12.0 %	N-freie Extraktstoffe	30.5 %.

Extraktion der Alkaloide und Darstellung des Equisetin-dihydrochlorids.

1 kg lufttrockener, feingemahlener Schachtelhalm wird mit 10 l 3-proz. Salzsäure verrührt und 18–24 Stdn. bei etwa 40–50° stehengelassen. Dann wird die saure Lösung vom festen Rückstand abgepreßt, filtriert und 4–5 mal mit Chloroform ausgeschüttelt (Chloroformauszug A). Die salzsaure Lösung wird mit festem Natriumcarbonat und etwas Natronlauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und der ausgefallene kalkhaltige Schleim abfiltriert und mit Wasser ausgewaschen. Der alkal. Lösung werden die Alkaloide durch 7–8maliges Ausschütteln mit Chloroform entzogen (Chloroformauszug B); die sich beim Ausschütteln stets bildenden Emulsionen werden durch Zentrifugieren getrennt. Die über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknete Chloroformlösung wird von der Hauptmenge des Lösungsmittels befreit und die eingeeengte Lösung einige Male mit wenig 2 n HCl ausgeschüttelt. Die salzsaure Lösung wird mit festem Natrium-

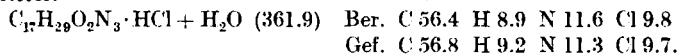
hydrogencarbonat neutralisiert, von ausgeschiedenem rothraunem Harz abgegossen und einige Male mit Äther ausgeschüttelt (Ätherauszug C). Die so gereinigte wäßr. Lösung wird dann mit 2 *n* NaOH kräftig alkalisch gemacht, wobei sich wieder etwas Harz und, wenn die Lösung genügend konzentriert ist, auch Equisetin ausscheidet. Dann wird sofort 8–9mal mit Äther ausgeschüttelt (Ätherauszug D) und anschließend noch 4–5mal mit Chloroform (Chloroformauszug E). Die über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung D, die die Hauptmenge des Equisetins enthält, wird vom Äther befreit und der Rückstand in verd. Salzsäure aufgenommen. Gegebenenfalls wird die Reinigung durch Neutralisieren, Ausschütteln usw. wiederholt. Der Chloroformauszug E wird ebenfalls, zusammen mit Krystallisationsrückständen des Equisetin-dihydrochlorids einer erneuten Reinigung unterworfen.

Die fast farblose salzsaure Lösung des Equisetins wird i. Vak. trockengedampft und das Equisetin-dihydrochlorid durch Umkrystallisieren aus Äthylalkohol, oder besser aus einem Gemisch von Äthyl- und Isopropylalkohol, völlig rein erhalten. Es krystallisiert je nach der Konzentration in farblosen, harten kurzen Prismen oder nadelförmigen Krystallen vom Schmp. 190° (Zers.) nach vorangehender Dunkelfärbung und Sintern. Es ist äußerst leicht löslich in Wasser und Methanol, etwas weniger löslich in Äthylalkohol, schwerlöslich in Isopropyl- und Amylalkohol, praktisch unlöslich in Äther, Chloroform, Aceton und Essigester. Es reagiert deutlich sauer; der Geschmack ist bitter, leicht adstringierend. Die Ausbeute an reinem Equisetin-dihydrochlorid betrug durchschnittlich etwa 0.01–0.02% des trockenen Ausgangsmaterials. α : +0.55 (in Wasser, 2 dm-Rohr). $[\alpha]_D^{25}$: +8.7°; Karrer und Eugster⁵) geben $[\alpha]_D^{18}$: +8.3° an.



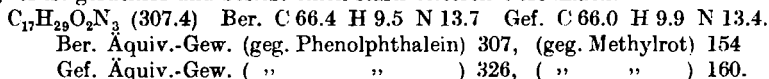
Equisetin-monohydrochlorid.

Eine konz. wäßr. Lösung des Equisetin-dihydrochlorids wird mit überschüss. festen Natriumhydrogencarbonat versetzt und 8–9mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die getrocknete Chloroformlösung wird vom Chloroform befreit. Der Rückstand erstarrt beim Anreiben mit Benzol. Aus Chloroform + Essigester farblose Prismen oder Nadeln, die bei 154–155° scharf schmelzen. Leicht löslich in Wasser, Alkohol und Chloroform; fast unlöslich in Essigester, Aceton, Äther und Benzol; reagiert praktisch neutral und schmeckt bitter.

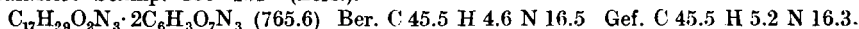


Equisetin.

Eine gekühlte Lösung des reinen Equisetin-dihydrochlorids oder Monohydrochlorids in wenig Wasser wird mit überschüss. 2 *n* NaOH versetzt und die ölig ausfallende Base mit Äther ausgeschüttelt. Die getrocknete und vom Äther befreite Lösung hinterläßt einen Rückstand, der im Vak.-Exsiccator zu einer farblosen Krystallmasse vom Schmp. 120–121° erstarrt. Durch Umkrystallisieren aus Benzol + Petroläther wird der Schmelzpunkt nicht erhöht. Das Equisetin ist sehr leicht löslich in Alkohol und Chloroform, etwas weniger leicht in Wasser, Äther und Benzol, fast unlöslich in Petroläther; es ist geruchlos und besitzt einen stark bitteren Geschmack.

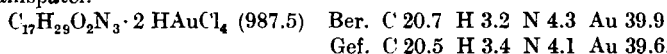


Das Dipikrat des Equisetins bildet gelbe, weiche Nadeln; unlöslich in Wasser, schwerlöslich in Alkohol, Essigester, Benzol, leicht löslich in Aceton. Aus viel Alkohol umkrystallisiert Schmp. 150–151° (Zers.).



Das Dichloraurat bildet, aus salzsäurehaltigem Wasser umkrystallisiert, orangefarbene Nadeln, die sich, abhängig von der Geschwindigkeit des Erhitzens, bei 190–195°

zersetzen; es ist leicht reduzierbar unter Goldabscheidung, z. B. durch Berühren mit einem Stahlspatel.



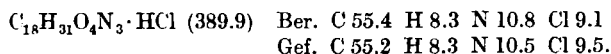
Durch 3-stdg. Erwärmen mit *n* NaOH auf dem Wasserbade wurde das Equisetin nicht verändert. Die zurückgewonnene Base wurde in das Dihydrochlorid übergeführt; Schmp. 190° (Zers.), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +8.3°.

Nach 3-stdg. Kochen mit 20-proz. Salzsäure und Eindampfen auf dem Wasserbade hatte sich ein fast farbloses, zähes Harz gebildet, aus dem kein Equisetin-dihydrochlorid herauskrystallisiert werden konnte.

Oxydationsversuch mit Permanganat: 0.75 g Equisetin wurden in etwas Wasser und Natronlauge gelöst und dazu, anfangs unter Kühlung, 4-proz. Kaliumpermanganat-Lösung so lange zugetropft, wie Entfärbung stattfand. Aus dem alkal. Reaktionsgemisch wurden mit Wasserdampf etwa 20% des Stickstoffs als Ammoniak sowie eine sehr geringe Menge flüchtiger Säure übergetrieben. Aus der filtrierten, eingengt und angesäuerten Lösung wurden 0.15 g Oxalsäure durch Ausäthern gewonnen. Aus der i. Vak. trockengedampften Lösung wurde durch Ausziehen mit absol. Alkohol eine kleine Menge einer öligen Säure erhalten, die in Wasser leichter löslich ist als in organischen Lösungsmitteln.

Equisetonin.

Aus den letzten Äthanol-Mutterlaugen des rohen Equisetin-dihydrochlorids wurde eine geringe Abscheidung feiner, weicher Krystalle erhalten, die sich von den derben Krystallen des Equisetin-dihydrochlorids scharf unterschieden. Dieselben Krystalle wurden beim Aufarbeiten des Ätherauszuges C (s. oben) gewonnen. Aus Alkohol + Aceton umkrystallisiert, schmilzt das Hydrochlorid des neuen Alkaloids bei 220° (Zers.). Das in Wasser leichtlösliche Salz schmeckt bitter; Ausb. etwa 0.0002% des angewendeten Pflanzenmaterials.

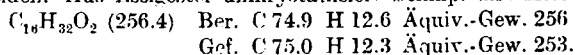


Das durch Alkali in Freiheit gesetzte Equisetonin fiel in farblosen Krystallen aus und schmolz roh bei etwa 130–135°. Die in Wasser fast unlösliche Base ist geruch- und geschmacklos.

Eine Reinigung und Analyse der freien Base, sowie eine Darstellung von anderen Derivaten war bislang wegen der geringen Mengen noch nicht möglich.

Palmitinsäure.

Bei der Wasserdampfdestillation des mit Salzsäure extrahierten Sumpfschachtelhalms geht zuerst ein schwach gelblich gefärbtes, charakteristisch riechendes äther. Öl in geringer Menge über. Einige Zeit nach Beginn der Destillation beginnt sich im Kühler Palmitinsäure abzuscheiden. Aus Essigester umkrystallisiert Schimp. und Misch-Schimp. 64°.



Aconitsäure.

Die nach dem Ausschütteln der Basen mit Chloroform hinterbliebenen wäbr.-alkal. Mutterlaugen werden eingedampft, angesäuert und mit viel Äther ausgeschüttelt. Der dunkle Rückstand der Ätherdestillation erstarrt i. Vak. Nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Eisessig oder Ameisensäure erhält man die ungesättigte Säure in farblosen, in Wasser und Äther leicht löslichen Krystallen, die sich bei 188–189° zersetzen und, mit Aconitsäure gemischt, keine Schmelzpunktniedrigung geben.

