

dieser Zeit von ca. $+116^{\circ}$ auf ca. $+30^{\circ}$ ab und blieb dann konstant. Sodann wurde mit frisch gefälltem BaCO_3 neutralisiert, über wenig Kohle filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde mit Aceton ausgezogen und lieferte 206 mg eines Sirups (XVI), der Fehling'sche Lösung kräftig reduzierte.

Oxydation von (XVI) mit KMnO_4 . Die Oxydation des eben erhaltenen Zuckersirups wurde unter genauer Einhaltung der Vorschrift von Shoppee und Reichstein¹⁾ durchgeführt. Verwendet wurden 765 mg KMnO_4 (6 Atome O) in 15 cm³ Wasser. Es wurden im vorliegenden Fall nur die nicht flüchtigen Säuren isoliert und diese mit Diazomethan verestert.

d(+)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid. Das aus der Oxydation erhaltene Estergemisch wurde im Molekularkolben bei 12 mm destilliert und die bei $30\text{--}70^{\circ}$ übergegangene Fraktion (25 mg) mit 1 cm³ bei 0° mit trockenem Ammoniak gesättigten Methanols versetzt und 2 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann wurde eingedampft und der Rückstand im Molekularkolben bei 0,01 mm und bis 190° Badtemperatur destilliert. Das Destillat lieferte beim Umkrystallisieren aus wenig Methanol 7 mg *d*(+)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid²⁾ in kleinen Prismen vom Smp. $183\text{--}184^{\circ}$. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = +54,7^{\circ} \pm 4^{\circ}$ ($c = 0,548$ in Methanol).

5,532 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{15} = +0,30^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum frisch sublimiert.

3,190 mg Subst. gaben 4,813 mg CO_2 und 1,751 mg H_2O

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3\text{N}_2$ (146,13) Ber. C 41,10 H 6,89%

Gef. „ 41,17 „ 6,14%

Die Mischprobe mit einer möglichst gleichen Menge *l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid schmolz bei $176\text{--}178^{\circ}$.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolaboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität, Basel.

2. Über den Nachweis von Erdalkalimetallen im Zellgewebe der Pflanze

von R. Haller.

(7. XI. 45.)

Anlässlich einer Untersuchung über das Endosperm von Johannisbrotkernen (*Ceratonia siliqua*) versuchte ich die in demselben in reichlichem Masse enthaltenen Schleimsubstanzen durch eine spezifische Färbung kenntlich zu machen.

Unter vielen von mir mit geringem Erfolg angewendeten Farbstoffen habe ich nun im Natriumsalz der Alizarin-monosulfosäure, dem Alizarinrot SW oder Alizarin S eine Substanz gefunden, welche allerdings nicht die Schleimsubstanzen färbte, sondern eigenartigerweise

¹⁾ C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. **25**, 1611 (1942).

²⁾ T. Purdie, G. W. Neave, Soc. **97**, 1519 (1910).

³⁾ T. Purdie, W. Marshall, Soc. **59**, 470 (1891) fanden für das *d,l*-Diamid Smp. 175° (unkorr.).

gewisse Zellgeweberelikte intensiv rot, die sich im Johannisbrotkernmehl immer in grösserem oder geringerem Masse finden. Da diesen Zellgeweberelikten auch gewisse Mengen Proteinsubstanzen beige-mischt sind, so könnte man diese Färbung natürlicherweise auf die bekannte Affinität der Alizarin-monosulfosäure zu Eiweisstoffen, wie wir sie ja aus der Färberei der Wolle kennen, erklären, wenn nicht die Färbung intensiv rot anstatt wie die der Wolle braun gewesen wäre.

Die braune Wollfärbung geht bekanntlich erst in Rot über, wenn sie mit Metallsalzen, vorzugsweise Aluminiumsalzen, Alaun und dergleichen behandelt wird, wobei sich eine der komplizierten Alizarin-Tonerde-Verbindungen bildet, welche wir aus den Arbeiten von *Hoffmann*¹⁾ und *Rutishauser*²⁾ kennen. Die Anwesenheit von bestimmten Metalloxyden ist also Bedingung für die Bildung der roten Verbindung. Wir wissen indessen auch, dass mit Calciumverbindungen intensiv blauviolette „Lacke“ entstehen, ebenso mit Bariumverbindungen, während Magnesiumverbindungen wiederum rote Lacke bilden. Da wir in den Pflanzen vor allem mit Calciumsalzen, aber auch mit Magnesiumsalzen zu rechnen haben — Magnesium ist zur Bildung von Chlorophyll erforderlich — wogegen wir Aluminiumverbindungen nur ganz ausnahmsweise in einigen einheimischen Lycopodiumarten und in gewissen tropischen Gewächsen finden, und Bariumverbindungen in der Pflanze meines Wissens überhaupt nicht vorkommen, so können wir auf Grund dieser Erkenntnis vermuten, dass die Rotfärbung von Pflanzenbestandteilen auf die Anwesenheit von Magnesiumverbindungen zurückzuführen ist.

Es war nun weiter von Interesse, zu untersuchen, ob auch im frischen Zellgewebe mit alizarin-monosulfosaurem Natrium die Entstehung der roten Färbung beobachtet werden kann. Ich habe zur Untersuchung in dieser Richtung Schnitte durch Blattstengel von *Cucurbita Pepo* L verwendet.

Legt man solche Schnitte in eine Lösung von Alizarin-monosulfosäure ein, so wird man unter dem Mikroskop nach kurzer Zeit, besonders in der Umgebung der Gefässbündelstränge, im Zellsaft des Parenchymgewebes die Bildung eines lebhaft scharlachroten Niederschlages feststellen. Nach und nach färbt sich auch die Lösung selbst rot, offenbar infolge Austretens von Zellsaft aus dem Zellgewebe. Eigenartigerweise bleibt die Epidermis, mit Ausnahme der äussersten Zellschicht, der eigentlichen Cuticula, ungefärbt. Die äusserste Zellschicht allerdings ist intensiv rot gefärbt, ebenso der Bezirk um die Gefässbündelstränge selbst, und diese Feststellung konnte auch beispielsweise für das Zellgewebe von *Urtica dioica* L, sowie von *Heracleum Spondylium* L gemacht werden. Es scheint demnach, dass die Magnesiumverbindungen sich vorzugsweise im Zellsaft vorfinden und offenbar von dort dann zum Aufbau des Chlorophylls weiter transportiert werden. Dass die chlorophyllhaltigen Gewebe diese Reaktion nicht zeigen, liegt wohl daran, dass das im Chlorophyll organisch-komplex gebundene Magnesium mit der Alizarin-monosulfosäure nicht mehr reagiert. Legt man Blattstengel von *Cucurbita Pepo* L in Alkohol zum Härten ein, so wird man auf Schnitten durch das gehärtete Material die Reaktion mit Alizarin SW in viel geringerem Masse beobachten. Versetzt man dagegen den

¹⁾ Diss. Dresden 1937.

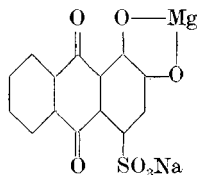
²⁾ Diss. Zürich 1940.

Härtungsalkohol mit alizarinmonosulfosaurem Natrium, so fällt ein reichlicher Niederschlag von lebhaft roter Farbe aus, so dass offenbar das Magnesiumsalz aus dem Gewebe in den Alkohol übergetreten ist.

Um nun weitere Argumente für die Anwesenheit von Magnesiumverbindungen im Zellsaft beizubringen, habe ich mich einer chlorophyllosen Pflanze, und zwar der *Orobanche lucorum* L, welche auf *Berberis schmarotzt*, bedient.

Schnitte durch den Stengel dieser Pflanze wurden in eine wässrige Lösung von alizarinmonosulfosaurem Natrium eingelegt und dann unter dem Mikroskop untersucht. Es wurde festgestellt, dass keine Spur einer Färbung vorhanden war, so dass, wie zu erwarten, Magnesiumverbindungen im Zellsaft dieser Pflanze nicht enthalten sind.

Schneidet man Stengel von *Cucurbita Pepo* L in kleine Stücke, übergiesst dieselben mit Alkohol und lässt 24 Stunden stehen, so färbt sich der Alkohol vom gelösten Chlorophyll schwach grünlich. Versetzt man nun mit einer alkoholischen Lösung von alizarinmonosulfosaurem Natrium, so trübt sich die Lösung und lässt einen roten Niederschlag in beträchtlicher Menge fallen, welcher zweifellos den Ausscheidungen entspricht, welche im Zellsaft der Querschnitte durch Blattstengel von *Cucurbita Pepo* L beobachtet werden konnten. Ich vermute, dass es sich hier um einen Magnesiumlack des alizarin-monosulfosauren Natrium handelt, wobei vorausgesetzt werden muss, dass das im Zellsaft enthaltene Magnesiumsalz in Alkohol löslich ist. Dieser rote Niederschlag ist in Wasser mit roter Farbe löslich, was durch die Sulfogruppe bedingt sein wird. Ist dieser rote Niederschlag vielleicht folgende Verbindung?



Die wässrige Lösung färbt in neutralem Zustand Wolle intensiv purpurrot, also vollkommen verschieden von der Färbung in alizarinmonosulfosaurem Natrium allein.

Bei diesem roten, in Wasser löslichen Niederschlag, handelt es sich wohl kaum um ein dem eigentlichen Türkischrot analoges komplexes Gebilde, sondern um einen Körper von einfacherer Konstitution, wie er im oben erwähnten Formelbild dargestellt wird; das geht schon daraus hervor, dass die wässrige Lösung auf Zusatz von Eisessig sofort entfärbt wird, wogegen bekanntlich die komplexen Al-Ca-Lacke davon in keiner Weise beeinflusst werden.

Wir haben oben gesehen, dass aus dem alkoholischen Extrakt von *Cucurbita Pepo*-L-Stengeln alizarin-monosulfosaures Natrium einen roten Niederschlag fällt. Das im Zellsaft anwesende Magnesiumsalz muss also in alkohollöslicher Form darin enthalten sein, vermutlich als Chlorid; dieses ist ja in erheblichen Mengen in Alkohol löslich. Legt man einen Schnitt durch den Stengel der obgenannten Pflanze in eine verdünnte Lösung von Silbernitrat ein, so beobachtet man unter dem Mikroskop die Bildung eines Niederschlages im Zellsaft, der am Licht schwärzlich wird und bei Zufließenlassen von Ammoniak vollkommen verschwindet. Damit sind Chlorionen nachgewiesen, und das Magnesium wird zweifellos auch als Chlorid im Zellsaft enthalten sein.

Dass es sich im Niederschlag aus dem alkoholischen Extrakt der genannten Pflanze um einen Magnesiumlack handelt, wurde durch Veraschung des Niederschlages und Extraktion mit verdünnter Salzsäure bewiesen, indem in der Lösung mit den bekannten Magnesiumreagentien dieses Kation diagnostiziert werden konnte. Der Nachweis wurde

mit der Magnesium-Ammonium-Phosphat-Fällung erbracht. Aber auch die *Hahn*'sche Probe, welche sehr empfindlich ist und auch bei Anwesenheit von Calciumion einwandfreien Nachweis von Magnesiumion gestattet, war positiv. *Hahn* verwendet als Reagenz Chinalizarin (Tetraoxy-anthrachinon). Dieses ist in Wasser unlöslich, gibt aber auf Zusatz von normaler Lauge zur wässrigen Suspension eine blauviolette Lösung. Gibt man dazu eine Lösung eines Magnesiumsalzes, so färbt sich die Lösung rein blau, und sehr rasch fällt ein leuchtend blauer Niederschlag aus. Dieser entsteht auch aus sehr verdünnten Lösungen, vorausgesetzt, dass sie nicht sauer sind. Eigenartigerweise versagt die Reaktion aber bei ihrer Anwendung auf Schnitten durch pflanzliches Zellgewebe. Man erkennt wohl eine blasser Blaufärbung der Zellwände, nicht aber die Bildung des charakteristischen blauen Niederschlages. Möglicherweise verhindern die im Zellsaft vorhandenen Eiweiss-substanzen die Ausfällung des Niederschlages durch Schutzkolloidwirkung.

Ergänzend zu den obigen Mitteilungen habe ich mit dem Alizarinrot SW noch Versuche mit den ostindischen Pflanzen, *Symplocos fasciculata* Zoll. und *Symplocos spicata* Roxb. gemacht.

Die Blätter dieser beiden Pflanzen wurden in eine kalte Lösung von Alizarinrot SW eingelegt, und dann nach zweimal 24 Stunden mikroskopisch untersucht. Man erkennt die sehr reichliche Ablagerung von roten Körnern im Zellgewebe, welche aber im vorliegenden Fall vorwiegend auf die Anwesenheit von Aluminiumverbindungen in der Pflanze zurückzuführen ist. Diese beiden genannten Pflanzen dienen nämlich den eingeborenen Färbern zur Erzeugung von Türkischrot auf baumwollenen Geweben¹⁾. Ich konnte aber durch Veraschen eines Fragmentes des Blattes von *Symplocos spicata* Roxb. und Aufnehmen der Asche mit verdünnter Schwefelsäure im Filtrat mittelst der *Hahn*'schen Reaktion erhebliche Mengen Magnesiumion nachweisen. Dieser Nachweis liesse vermuten, dass in den Alizarinrotfärbungen, welche in Niederländisch Indien mit der Asche der *Symplocos*-Pflanze (*Dirijak*) hergestellt werden, Magnesium an der Bildung des Lackes beteiligt ist.

Doch trifft dies kaum zu. Denn ich habe eine Probe Baumwollgewebe zunächst normal geölt, und zwar wurde zur Ausschaltung jeder Spur von Calciumsalzen das Türkischrotöl in destilliertem Wasser gelöst. Das Beizen wurde in einem Gemisch der Lösungen von Aluminiumacetat und Magnesiumacetat, beide völlig kalkfrei, vorgenommen. Nach dem Trocknen und Dämpfen wurde in Natriumphosphatlösung fixiert und dann in einer Suspension von Alizarin in destilliertem Wasser 2 Stunden gefärbt. Man erhält wohl eine zunächst normal aussehende Färbung, welche aber nach 2-stündigem Dämpfen und nachfolgendem Seifen ausserordentlich an Intensität verliert und nach dem Trocknen als ein wenig lebhaftes Rosa erscheint. Ein Parallelversuch mit einer sachgemässen Färbung unter Anwesenheit von Calciumsalzen ergab ein durchaus normales, intensives Rot. Der Ersatz von Calcium durch Magnesium führt also zu einer hinsichtlich Farbtone und Echtheit völlig ungenügenden Färbung.

Riehen bei Basel.

¹⁾ Vgl. *Driessen*, Bl. Soc. ind. Mulhouse **1894**, 201.
