

Dipsacan und Dipsacotin, ein neues Chromogen und ein neuer Farbstoff der Dipsaceae

von

TINE TAMMES.

Aus dem Botanischen Laboratorium der
Universität Groningen.

EINLEITUNG.

Die zahlreichen pflanzlichen Farbstoffe können nach ihrem Verhalten der Pflanze gegenüber in zwei Gruppen getrennt werden. Einerseits hat man diejenigen, welche als solche in der lebenden Pflanze vorkommen, und welche man meistens äusserlich an der Pflanze beobachten kann. Diese Farbstoffe sind oft der Färbung wegen wichtig für die Pflanze. Dieselben haben entweder, wie das Chlorophyll, durch die Fähigkeit bestimmte Lichtstrahlen zu absorbieren eine physiologische Bedeutung, oder sie können, wie die Farbstoffe der Blumen, durch die Anlockung der Insekten in biologischer Hinsicht der Pflanze dienen. Dieser Gruppe von Farbstoffen, welche den Farbenreichtum der Pflanzenwelt verursachen, gegenüber, stehen andere pflanzliche Farbstoffe, welche nicht in der lebenden Pflanze vorkommen. Dieselben geben der Pflanze keine bestimmte Farbe und sind also als Farbstoffe ohne Bedeutung für das Pflanzenleben. Sie entstehen erst beim Sterben oder nach dem Tode durch chemische Umsetzungen von in der

lebenden Pflanze vorhandenen Stoffen, von sogenannten Chromogenen. Es sind gerade diese Farbstoffe, welche in der Industrie in so grosser Menge Verwendung finden, wie z. B. das gelbe Alizarin aus der Wurzel von *Rubia tinctoria*, das gelbe Quercitin aus der Rinde und dem Splint von *Quercus tinctoria* und der blaue Indigo hauptsächlich aus den Blättern verschiedener *Indigofera*-Arten, *Isatis tinctoria* und *Polygonum tinctorium*.

Die Weise, wie der Farbstoff aus dem in der lebenden Pflanze vorhandenen Chromogen während oder nach dem Absterben des Pflanzenteils gebildet wird, ist meistens unbekannt. Nur in einzelnen Fällen kennt man die chemischen Prozesse, welche dabei stattfinden und hat man gefunden, dass die Farbstoffe als Spaltungsprodukte unter andern von Glukosiden entstehen, oder dass Oxydationserscheinungen, bisweilen nach vorhergehenden chemischen Umsetzungen auftreten. Von den Chromogenen und daraus hervorgehenden Farbstoffen, welche eingehend studiert sind, will ich nur die der Indigopflanzen besprechen, weil diese im Hinblick auf vorliegende Untersuchung die wichtigsten sind.

Es liegt ausser dem Rahmen dieser Arbeit eine Übersicht der zahlreichen Untersuchungen über den Indigo und die indigoliefernden Pflanzen zu geben. Dafür verweise ich auf die Abhandlung Tullekens¹⁾, in welcher ein sehr ausführliches Verzeichnis der Indigoliteratur, seit dem Jahre 1574, vorkommt. Ich will hier nur im kurzen Einiges über das Entstehen des Indigos aus dem Chromogen mitteilen.

Erst in der letzten Zeit hat man durch die Untersuchun-

1) J. E. Tulleken, Indigo en zijn onderzoek. Inaug. Diss. Leiden, 1900.

gen von Molisch¹⁾, van Lookeren Campagne²⁾, Hazewinkel³⁾ und besonders durch die von Beyerinck⁴⁾ eine richtige Einsicht in die Erscheinungen gewonnen, welche bei der Bildung des Indigos in den *Indigofera*-Arten, *Isatis tinctoria* und *Polygonum tinctorium* und anderen Indigopflanzen auftreten. Während des Lebens kommt in diesen Pflanzen ein Chromogen vor, in den *Indigofera*-Arten und in *Polygonum tinctorium* das Indican, ein Glukosid, in *Isatis tinctoria* das Isatan, welches wahrscheinlich kein Glukosid ist. Das Indican ist schon länger bekannt, das Isatan ist aber erst von Beyerinck im Jahre 1900 gefunden worden. Ausser dem Chromogen befindet sich in allen diesen Pflanzen ein Enzym, das die

1) H. Molisch, Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans in der Pflanze nebst Beobachtungen über ein neues Chromogen. Sitzungsber. d. k. Akad. der Wiss. Wien, Bd. 102, 1893, S. 269; ferner: Über die sogenannte Indigogärung und neue Indigopflanzen. Ebenda, Bd. 107, 1898, S. 747; und: Über das Vorkommen von Indican im Chlorophyllkorn der Indicanpflanzen. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. 17, 1899, S. 228.

2) C. J. van Lookeren Campagne, Bericht über Indigo Untersuchungen. Landw. Versuchsstat. Bd. 43, 1894, S. 401; ferner: Über die Zuckerart des Indicans. Ebenda, Bd. 45, 1895, S. 195; und: Über Indigobildung aus Pflanzen der Gattung „*Indigofera*“. Ebenda, Bd. 46, 1896, S. 249.

3) J. J. Hazewinkel, Het indican, zijne splitsing en het daarbij werkzame enzym. Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, Dl. 8, 1900, S. 590; und: Theorie der indigofabricatie. Maand. Bull. v. h. Proefstat. voor Indigo, Klaten, Java, 1900, Afl. 1.

4) M. W. Beyerinck, Over de Indigovorming uit de Weede (*Isatis tinctoria*). Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, Dl. 8, 1900, S. 91; ferner: Over de indigofermentatie. Ebenda, Dl. 8, 1900, S. 572; und: Verdere onderzoeken over de indigovorming uit Weede (*Isatis tinctoria*). Ebenda, Dl. 9, 1901, S. 74.

Fähigkeit besitzt das Chromogen zu spalten. In der lebenden Pflanze sind die Spaltungsprodukte nicht wahrnehmbar; bei langsamem Absterben dagegen entstehen die Umsetzungsprodukte. Sowohl aus Indican wie aus Isatan wird Indoxyd gebildet, daneben aus Indican Glukose, aus Isatan ein noch unbekannter Stoff, welcher nach Beyerinck¹⁾ vielleicht kein Zucker ist. Das Indoxyd wird darauf an der Luft durch Oxydation in Indigblau übergeführt. Die Indigopflanzen sind also charakterisiert durch das Vorhandensein eines Chromogens, das beim Absterben der Pflanze durch ein zugleich anwesendes Ferment zersetzt wird, während von den gebildeten Spaltungsprodukten eins nach Oxydation den Farbstoff liefert.

Eine Erscheinung, welche grosse Übereinstimmung mit der Bildung des Indigos in den genannten Pflanzen zeigt, findet sich bei den Pflanzen aus der Familie der *Dipsaceae*. Zufälligerweise erregte es meine Aufmerksamkeit, dass Blätter von *Dipsacus sylvestris*, welche nach der im hiesigen Laboratorium zum Trocknen für das Herbar angewandten Methode²⁾ getrocknet und dabei bis zu einer Temperatur von 60° C. erwärmt waren, eine schöne, dunkelblaue Farbe zeigten. Auch die Indigopflanzen, insbesondere *Polygonum tinctorium* zeigten diese Erscheinung und es ist mir sogar gelungen nach dieser Methode in den Gattungen *Cymbidium* und *Limodorum*, welche, so viel ich weiß, bis jetzt nicht als indigoliefernd bekannt waren, die Bildung von Indigo nachzuweisen. Es war dies der Fall bei *Cymbidium ensifolium* Sw. und bei *Limodorum Incarvillei* Blume.

Anfangs meinte ich also auch in *Dipsacus sylvestris*

1) M. W. Beyerinck, l. c. S. 82.

2) J. W. Moll, Een toestel om planten voor het herbarium te drogen. Bot. Jaarb. Jaarg. VI, 1894, S. 1.

eine neue indigoliefernde Pflanze gefunden zu haben. Als ich aber die Sache sorgfältiger untersuchte, erwies sich dies als unrichtig und es ergab sich, dass das in den *Dipsacus*-blättern gebildete Blau ein anderer, noch nicht bekannter blauer Farbstoff war. Die einzige Andeutung über das Vorkommen eines derartigen Farbstoffes bei den *Dipsaceae*, welche ich in der Literatur finden konnte, war eine Mitteilung de Lasteyries.¹⁾ In seiner alten Arbeit über den Waid, *Isatis tinctoria*, und *Indigofera* zählt er eine grosse Anzahl von Pflanzen auf, welche einen blauen Farbstoff liefern können. Zu diesen gehört auch *Scabiosa Succisa* L. und de Lasteyrie sagt über diese Pflanze das Folgende: „plusieurs auteurs ont écrit que cette plante donnait une couleur bleue ou verte, en préparant ses feuilles comme celles du pastel, et que même elle était employée à cet usage en Suède. Nous ne connaissons rien de certain à cet égard.“

Leider nennt de Lasteyrie seine Quellen nicht und es war mir dadurch nicht möglich die Sache weiter nachzuforschen.

Ferner teilt de Vries²⁾ in einer Abhandlung über eine Methode zur Herstellung farbloser Alkoholpräparate mit, dass der ausgepresste Saft von *Dipsacus fullonum* beim freien Zutritt der Luft nach einigen Tagen schwarz wird.

Mehr Angaben habe ich nicht finden können, sodass ich den blauen Farbstoff der *Dipsaceae*, wenn nicht als vollkommen unbekannt, dennoch als noch nicht weiter studiert betrachten muss. Ich werde deshalb im folgen-

1) C. P. de Lasteyrie, Du Pastel, de l'Indigotier, et des autres végétaux, dont on peut extraire une couleur bleue. Paris, 1811.

2) Hugo de Vries, Een middel tegen het bruin worden van plantendeelen bij het vervaardigen van preeparaten op spiritus. Maandbl. voor Natuurwet. 1886, No. 1.

den mitteilen, was meine Untersuchungen über die Bildung und die Eigenschaften dieses Farbstoffes gelehrt haben.

Den blauen Farbstoff habe ich **Dipsacotin** genannt, das Chromogen, aus welchem derselbe hervorgeht, **Dipsacan**, während ich das in der Pflanze vorhandene Enzym, das imstande ist das Chromogen zu zersetzen, den Namen **Dipsacase** gegeben habe. Bei meinen Untersuchungen habe ich an erster Stelle die Bedingungen, unter welchen das Dipsacusblau aus dem Dipsacan gebildet wird, studiert, und weiter diejenigen Eigenschaften des Farbstoffes und des Chromogens, welche durch einfache Mittel sich feststellen liessen. Weiter untersuchte ich das Vorkommen des Dipsacans unter verschiedenen Wachstumsbedingungen, die Lokalisation desselben in der Pflanze; und die Dipsacase, das Dipsacan zersetzungende Enzym. Schliesslich habe ich die Verbreitung des Dipsacans bei einer grossen Anzahl von Pflanzen aus verschiedenen Familien, insbesondere aus der Familie der *Dipsaceae* untersucht.

Auf ein eingehendes, chemisches Studium sowohl des Dipsacans wie des Dipsacotins habe ich verzichtet, die Bestimmung der chemischen Natur, der Formel dieser Stoffe habe ich nicht als meine Aufgabe betrachtet. Das bleibe den Chemikern überlassen.

K A P. I.

Das Dipsacotin.**§ 1. DIE BEDINGUNGEN, UNTER WELCHEN DAS DIPSACOTIN
AUS DEM DIPSACAN GEBILDET WIRD.**

Um die Bedingungen unter welchen der blaue Farbstoff aus dem Chromogen hervorgeht, kennen zu lernen und die Erscheinungen, welche dabei auftreten, zu studieren, habe ich einige Versuche angestellt. Als Material für diese Untersuchungen benutzte ich hauptsächlich die Wurzelblätter von *Dipsacus sylvestris* und *Dipsacus fullonum*, sehr geeignete Objekte, weil dieselben leicht auch im Winter zu erhalten waren. Um das etwaige Vorhandensein selbst einer geringen Menge des Farbstoffes festzustellen, wurden die Blätter nach jedem Versuch immer so lange mit kaltem Alkohol extrahiert bis das Chlorophyll vollständig verschwunden war. Enthielten die Blätter Dipsacotin, so schwankte ihre Farbe, je nach der Menge des Farbstoffes, zwischen sehr hellblau und dunkelblau bis schwarz. Sogar sehr geringe Spuren von *Dipsacus*-blau waren in dieser Weise aufzufinden.

An erster Stelle ist nun untersucht worden ob der Farbstoff unter normalen Verhältnissen schon in der lebenden Pflanze vorkommt. Hierzu wurden Blätter abgeschnitten und sogleich in Alkohol gebracht. Nach einiger Zeit waren dieselben vollkommen farblos, und auch mikroskopisch konnte in denselben kein Dipsacotin nachgewiesen werden. Es geht hieraus hervor, dass in der lebenden Pflanze kein Farbstoff vorhanden ist, oder nur in so äusserst geringer Menge, dass man denselben nicht

wahrnehmen kann. Erst während des Absterbens oder nach dem Tode des Pflanzenteils wird das Dipsacotin aus dem Chromogen gebildet.

Im Zusammenhang mit der in der Einleitung genannten Beobachtung lag es nun auf der Hand, zu untersuchen inwieweit die Temperatur Einfluss auf die Bildung des Dipsacusblaus ausübt. Für Versuche in dieser Richtung benutzte ich Thermostate, welche konstante Temperaturen bis 150° C. gaben. Die Blätter wurden sogleich, nachdem sie von der Pflanze geschnitten waren, in den Thermostat gebracht, und zwar in einen feuchten Raum oder zwischen dicken Schichten von Filterpapier, welche mittels Brettchen fest zusammengepresst wurden. Die Blätter konnten also nie schnell austrocknen. Weshalb diese Vorsichtsmassregel genommen wurde, werde ich später besprechen.

Diese Versuche bei sehr verschiedenen Temperaturen haben das Folgende gelehrt.

Bei gewöhnlicher Temperatur entwickeln sich auf abgeschnittenen feuchten Blättern immer Schimmelpilze und Bakterien, welche die Blätter töten und Veränderungen darin hervorrufen. Dieses kann verhindert werden wenn ein Blatt einen Augenblick in Alkohol gelegt wird, damit daran haftende Sporen oder Bakterien getötet oder entfernt werden, und darauf in eine sterilisierte Glasdose über destilliertes Wasser gestellt wird. Nach einigen Wochen ist das Blatt abgestorben und kann dann untersucht werden. Diese Untersuchung hat ergeben, dass bei gewöhnlicher Temperatur, $\pm 15^{\circ}$ C., kein Blau gebildet wird, denn nach Extraktion mit Alkohol sind die Blätter vollkommen farblos. Erst bei 35° C. entstehen geringe Spuren von Dipsacotin; die Menge ist aber so gering, dass das Blau im grünen Blatt nicht merkbar ist. Nur nach dem Entfernen des Chlorophylls zeigt sich das Vorhandensein des Farbstoffes durch

die hellblaue Farbe des Blattes. Dagegen wird schon bei 40° C. so viel Farbstoff gebildet, dass das Blatt, der Anwesenheit des Chlorophylls ungeachtet, deutlich blau gefärbt erscheint. Bei steigender Temperatur nimmt, unter übrigens gleichen Verhältnissen, die Bildung von Dipsacusblau zu, bei 60° C. werden die Blätter dunkelblau, fast schwarz. Das nämliche findet bei noch höherer Temperatur statt und auch bei 100° C. werden die Blätter dunkelblau bis schwarz gefärbt.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, dass für die Bildung des Dipsacotins aus dem Dipsacan eine Erwärmung wenigstens bis auf 25° C. notwendig ist.

Ausser mit abgeschnittenen Blättern habe ich auch Versuche mit lebenden Pflanzen angestellt um zu untersuchen, ob es möglich sei durch Temperaturerhöhung Dipsacusblau in der noch lebenden Pflanze zu bilden. Hierzu wurden in Töpfen wachsende, kräftige Pflanzen von *Dipsacus sylvestris* in ein Zimmer mit konstanter Temperatur gestellt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind folgende. Bei Temperaturen niedriger als 35° C., bei welchen in abgeschnittenen Blättern kein Blau gebildet wird, entsteht der Farbstoff auch nicht in den Blättern der lebenden Pflanze. Auch bei 35° C. ist sogar nach 8 Tagen in den Blättern der noch kräftig vegetierenden Pflanze gar kein Dipsacotin gebildet, während es in abgeschnittenen, im nämlichen Raum sich befindenden Blättern in geringer Menge vorkommt. Auch bei 40° C. und noch höherer Temperatur entsteht in den Blättern der Pflanze niemals Farbstoff so lange dieselben noch leben, während abgeschnittene Blätter bei der nämlichen Temperatur deutlich blau werden. Erst nachdem die Pflanze abzusterben anfängt, wird das Blau in den bereits gestorbenen Blättern merkbar, während zu gleicher Zeit die noch lebenden Blätter keine Spur davon zeigen. In der lebenden Pflanze bildet das Chromogen

also kein Dipsacotin, selbst wenn die Temperatur hoch genug ist um die Bildung zu veranlassen, erst nach dem Tode des Pflanzenteils tritt der Farbstoff auf. Weil nun die Lebensgrenze der von mir untersuchten Pflanzen etwa 40° C. ist, entsteht in der lebenden Pflanze bis auf diese Temperatur kein Farbstoff, während das Dipsacotin in abgeschnittenen Blättern, weil dieselben ziemlich rasch absterben, schon bei etwas geringerem Wärmegrad auftritt.

Obgleich in den Blättern der lebenden Pflanze, sogar bei 40° C. kein blauer Farbstoff gebildet wird, findet dennoch in denselben unter dem Einfluss der hohen Temperatur eine gewisse Umsetzung statt. Während die Blätter einer bei gewöhnlicher Temperatur kultivierten Pflanze nach Extraktion in Alkohol vollkommen farblos sind, zeigen die Blätter einer Pflanze, welche einem Wärmegrad von 30°—40° C. ausgesetzt worden ist, nach Entfernung des Chlorophylls, eine mehr oder weniger gelbe bis bräunlich gelbe Farbe und diese ist um so dunkler je länger die Pflanze im geheizten Raum verweilt hat. Ob diese gefärbten Produkte von dem nämlichen Chromogen herrühren, welches den blauen Farbstoff liefert, weiss ich nicht. Es ist bekannt, dass in toten Pflanzenteilen, besonders nach Trocknen und Temperaturerhöhung, oft braune Stoffe vorkommen. Bei *Dipsacus* werden die braunen Produkte aber schon in der lebenden Pflanze gebildet, während in den abgestorbenen Blättern der blaue Farbstoff auftritt.

Die Zeit, welche für die Bildung des Dipsacotins aus dem Dipsacan nötig ist, hängt von der Temperatur ab. Je höher die Temperatur ist, um so rascher geht das Blau aus dem Chromogen hervor. Bei 40° C. dauert es einen Tag, bisweilen noch länger, bis der Farbstoff im Blatte bemerkbar wird, bei 100° C. ist das Blatt schon innerhalb einer halben Stunde blau gefärbt.

Eine zweite Bedingung für das Entstehen des Dipsacotins ist die Anwesenheit von Wasser. Werden Blätter frei in den Thermostat gelegt, so entsteht gar kein blauer Farbstoff oder nur in sehr geringer Menge. Die Blätter trocknen dann zu schnell. Dass dieses indertat die Ursache des Ausbleibens der blauen Färbung ist, beweist der folgende Versuch. Wird von einem Blatte die eine Hälfte in einem feuchten Raum, die andere Hälfte frei in dem Thermostat, dessen Temperatur 60°—80° C. beträgt, aufgestellt, so ist nach einiger Zeit die letztere ganz trocken und enthält kein Dipsacusblau, während der feucht gehaltene Teil dunkelblau erscheint. Aus diesem Versuch geht aber noch nicht hervor, dass das Wasser an und für sich zur Bildung des Dipsacotins notwendig ist.

Infolge des schnellen Austrocknens erfolgt das Absterben der Blätter sehr rasch. Nun wäre es möglich, dass bei *Dipsacus*, ebenso wie bei den Indigopflanzen, gerade ein langdauernder Absterbungsprozess die Bildung des Farbstoffes begünstigt und dass also in feucht gehaltenen Blättern, eben weil diese langsam absterben, Dipsacotin gebildet wird.

Um dies zu entscheiden tötete ich *Dipsacus*-Blätter sehr schnell und zwar in Dampf von kochendem Wasser. In wenigen Minuten waren die Blätter tot und braungelb gefärbt. Wurden dieselben darauf in das Zimmer bei $\pm 15^{\circ}$ C. gestellt, so trat keine Veränderung auf. Wenn nun die toten Blätter nach kurzer oder langer Zeit wieder einer Temperatur höher als 40° C. ausgesetzt wurden, so bildete sich Blau darin, aber nur wenn die Blätter feucht gehalten wurden. Hieraus ergibt sich, dass auch nach raschem Abtöten das Dipsacotin entstehen kann und dass bei der Bildung dieses Farbstoffes notwendig Wasser vorhanden sein muss, entweder weil die chemischen Prozesse, welche dabei auftreten, nur bei gelöstem Zustande der

Produkte stattfinden, oder weil das Wasser selbst an den chemischen Umsetzungen beteiligt ist. Ausserdem beweist dieser Versuch, dass das Dipsacusblau nicht während des Absterbens des Pflanzenteils entsteht, sondern erst nachher. Obgleich, wie wir oben sahen, das Dipsacotin nur in der toten Pflanze vorkommt, so ist die Bildung dieses Farbstoffes dennoch nicht vom Absterbungsprozess abhängig. Selbst Monate oder Jahre nach dem Tode kann das Dipsacusblau noch gebildet werden.

Ausser Erwärmung bis wenigstens auf 35° C. und Anwesenheit von Wasser gibt es noch eine dritte Bedingung für die Bildung des Farbstoffes aus dem Dipsacan. Das ist die Anwesenheit von Sauerstoff. Der Beweis dafür wird geliefert sein, wenn in Blättern, welche in einem feuchten, luftfreien Raum erwärmt werden, kein blauer Farbstoff entsteht. In dieser Richtung angestellte Versuche bieten aber Schwierigkeiten, weil die Blätter selbst zu viel Luft enthalten. Es genügt nicht Blätter mittels Quecksilber, Paraffin oder Öl von der Luft abzuschliessen, selbst nicht nachdem zuvor die Luft mittels der Luftpumpe möglichst aus den Blättern entfernt ist. Auch wenn die Blätter nach Entfernung der Luft mit Wasser injiziert und darauf in heissen Wasserdampf gebracht werden, färben dieselben sich dennoch nach einer Stunde mehr oder weniger blau. Freilich ist die Farbe viel weniger intensiv, als wenn die Luft freien Zutritt hat, aber dennoch kann dieser Versuch keinen völligen Aufschluss geben über die Frage, ob der Sauerstoff für die Blaufärbung notwendig ist. Ich habe darum versucht diese Frage in anderer Weise zu lösen. Wie später ausführlicher behandelt wird, ist das Dipsacan in heissem Wasser löslich und dieser Eigenschaft habe ich mich bedient. Um die Lösung des Chromogens zu erhalten wurden lebende Blätter in kleine Stücke geschnitten und die Luft aus den-

selben, mittels der Luftpumpe unter Wasser möglichst gut entfernt. Darauf wurden die Blattstücke mit dem Wasser in einer vollständig gefüllten, mit einem Bunsenschen Ventil verschlossenen Flasche durch 24 Stunden bis zu etwa 60° C. erwärmt. Das in dieser Weise erhaltene Extrakt war hellgelb. Dauerte die Erwärmung aber länger, so färbte die Flüssigkeit sich nach und nach blau. Weil es aber nicht sicher war, dass die Luft vollkommen ausgeschlossen war, musste für eine endgültige Entscheidung der Frage der Versuch anders gemacht werden. Dazu wurde das durch Erwärmung während eines Tages erhaltene, hellgelb gefärbte Extrakt bis auf \pm 80° C. erwärmt, teils in einem offenen Schälchen, teils in einem vollkommen luftfreien Raum. Das gewöhnliche Verfahren die Luft mittels Öl oder geschmolzenem Paraffin auszuschliessen zeigte sich hier als ungenügend. Das von diesen Stoffen bedeckte Extrakt wird bei Erwärmung blau und es schien mir nicht unmöglich, dass der Zutritt des Sauerstoffes in diesen Versuchen also noch nicht genügend gehemmt war. Dem Zutritt der Luft musste also in anderer Weise vorgebeugt werden. Dazu brachte ich die Flüssigkeit in eine unten verschlossene Glasröhre, welche oben in einer Kapillare endigte und seitlich eine dünnere U-förmig gebogene Röhre besass. Der freie vertikale Schenkel dieser Röhre war offen. Nachdem der Apparat mit dem Extrakt gefüllt war, wurde die Kapillare mit Ziegellack verschlossen und in die U-röhre so viel Quecksilber gegossen bis die Luft vollkommen abgeschlossen war. Es ergab sich nun, dass während das Extrakt in der offenen Schale nach einigen Stunden blau gefärbt war, dagegen die Flüssigkeit im verschlossenen Apparat unverändert blieb, sogar nach mehreren Tagen. Wurde diese Lösung dann aber bei freiem

Zutritt der Luft erhitzt, so färbte sie sich ebenfalls nach einigen Stunden blau.

Dieser Versuch beweist, dass für die Bildung des Dipsacotins Sauerstoff, wenn auch in geringer Menge, notwendig ist; es findet dabei eine Oxydation statt. Wie wir oben sahen, muss aber für die Bildung des blauen Farbstoffes auch noch Wasser vorhanden und die Temperatur höher als 35° C. sein. Muss man sich nun vorstellen, dass die Erwärmung nötig ist für die Oxydation des Dipsacans und entsteht also das Dipsacusblau durch blosse Oxydation des Chromogens, oder findet bei der höheren Temperatur erst eine Umsetzung des Dipsacans statt, während aus einem dabei gebildeten Produkt durch Oxydation das Dipsacotin hervorgeht? Die folgenden Beobachtungen geben die Antwort auf diese Frage. Wenn das durch Erwärmen auf 60° C. im luftfreien Raum erhaltene Extrakt in einem offenen Gefäß bei gewöhnlicher Temperatur sich selbst überlassen wird, so verändert dasselbe sogar nach mehreren Tagen nicht, während es beim Erwärmen im offenen Gefäß nach einiger Zeit blau wird. Wird aber das Extrakt in einem Glaskolben mit enger Mündung gekocht, so dass die Luft abgeschlossen ist, so wird Oxydation verhindert und die blaue Färbung bleibt aus. Durch das Kochen wird aber das Extrakt abgeändert. Die ursprünglich hellgelbe Farbe wird dunkler und ist nach etwa einer Stunde in dunkel gelbrot verwandelt. Wird nun diese Flüssigkeit in einem offenen Gefäß erwärmt, so findet die Bildung des Dipsacotins merklich rascher statt als vor dem Kochen des Extraktes. Zudem aber hat die Flüssigkeit die Eigenschaft bekommen sich schon bei gewöhnlicher Temperatur oxydieren zu können. Die Oxydation dauert zwar länger als beim Erhitzen, aber innerhalb 24 Stunden hat sich dennoch das Dipsacusblau gebildet.

Aus dem Vorhergehenden ergibt sich, dass bei der Bil-

dung des Dipsacusblaus durch die Erwärmung eine chemische Umsetzung des Dipsacans stattfindet, während die darauffolgende Oxydation des gebildeten Produktes bei gewöhnlicher Temperatur geschehen kann, aber durch Erwärmung gefördert wird. Um das Dipsacotin zu erhalten ist also zwar jedenfalls eine Temperatur von wenigstens 35° nötig, aber nur für die Zersetzung; die Oxydation kann entweder sogleich bei der Erwärmung stattfinden oder auch erst nachher bei gewöhnlicher Temperatur.

Nun fragt es sich, ob es auch Mittel gibt das Dipsacusblau auch bei gewöhnlicher Temperatur aus dem Dipsacan zu erhalten. Es wäre denkbar, dass durch die Einwirkung irgend eines Reagens auf das Dipsacan die nämlichen chemischen Prozesse bei gewöhnlicher Temperatur stattfinden könnten wie sonst bei höherer Temperatur. Um dies zu untersuchen wurden abgeschnittene Blätter in verschiedene Flüssigkeiten gebracht und darin durch mehrere Tage oder Wochen bei etwa 15° C. belassen. Darauf wurde das Chlorophyll mit Alkohol extrahiert um auch geringe Mengen des blauen Farbstoffes sichtbar zu machen. Von den Reagentien wurden mit negativem Erfolge die folgenden angewendet: Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Chromsäure, Essigsäure, Weinsäure, Ammoniak als Dampf und in Lösung, Natron- und Kalilauge, Eau de Javelle, kohlensaures Natron, Kaliumpermanganat, Eisenchlorid, Wasserstoffsuperoxyd, Bromwasser, Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Chloralhydrat und Terpentin. Die Blätter zeigten sogar nach mehreren Wochen keine Spur des blauen Farbstoffes. Nur in Benzin und Phenol (Karbolsäure) wurden die Blätter nach einiger Zeit merklich blau gefärbt, aber in viel geringerem Grade als bei Erwärmung in feuchter Luft. Selbst im günstigsten Falle waren die Blätter nur sehr hellblau gefärbt. Dennoch zeigte sich ohne Zweifel, dass diese Flüssigkeiten imstande wa-

ren Dipsacotin aus dem Chromogen zu bilden. Am besten eignete Benzin sich dazu; die Blaufärbung trat aber nur bei feuchten Blättern auf und, wie wir später sehen werden, sowohl in Phenol wie in Benzin nur bei Anwesenheit von Sauerstoff. Solange die chemische Zusammensetzung des Dipsacans noch nicht bekannt ist, lässt sich die Ursache des abweichenden Verhaltens dieser beiden Stoffe allen anderen genannten Reagentien gegenüber, nicht erklären. Vielleicht aber werden diese Versuche einen Fingerzeig geben die chemische Natur des Dipsacans festzustellen.

§ 2. DIE EIGENSCHAFTEN DES DIPSACOTINS.

Wie ich oben schon mitteilte, wechselt die Farbe der Blätter, aus denen das Chlorophyll entfernt ist, zwischen hellblau und dunkelblau bis schwarz. Ist das Chlorophyll nicht extrahiert, so gibt dieses, weil es infolge der Erwärmung mehr oder weniger gelbbraun gefärbt ist, mit dem Blau zusammen dem Blatte einen etwas grünlichen Ton.

Was nun die Löslichkeit des Dipsacotins in verschiedenen Flüssigkeiten und das Verhalten verschiedenen Reagentien gegenüber betrifft, haben die Beobachtungen folgendes gelehrt.

Das Dipsacusblau ist in kaltem Wasser löslich, aber leichter in heissem. Es entsteht je nach dem Grade der Konzentration eine sehr schön hellblaue bis dunkelblaue gefärbte Lösung. Diese wässrige Lösung reagiert sauer und schmeckt bitter; beide Eigenschaften können aber auch anderen, zugleich mit dem Dipsacotin extrahierten Stoffen zugeschrieben werden müssen. Obgleich das Blau sich leicht in heissem Wasser löst, gelingt es dennoch nicht durch Kochen unter wiederholtem erneutem Zusatz von Wasser den blauen Farbstoff vollständig aus den

Blättern zu extrahieren. Auch nach wiederholtem Wechsel des Wassers bleibt dasselbe sogar nach stundenlangem Kochen vollkommen farblos, obgleich die Blätter bei auffallendem Lichte dann noch fast schwarz sind. Nur bei durchfallendem Lichte ist merkbar, dass die grösste Menge des Farbstoffes verschwunden ist und zeigt das Blatt nur noch eine hell bläulich graue Farbe. Ein, sei es auch geringer Teil des Dipsacusblaus wird also durch das Ge- webe und zwar, wie Beobachtung unter dem Mikroskop lehrt, durch das Protoplasma der Zellen zurückgehalten.

In kaltem Alkohol ist das Dipsacotin schwer löslich und auch in kochendem nur in geringem Grade. Werden blau gefärbte Blätter in kochenden Alkohol gebracht, so farbt sich dieser grün mit einem Stich ins Blaue, weil zu gleicher Zeit Chlorophyll und Dipsacusblau extrahiert sind. Nach Ersatz durch neuen Alkohol tritt in denselben das Blau mehr in den Vordergrund und wenn nach zwei- oder dreimaligem Wechsel das Chlorophyll vollkommen entfernt ist, erhält man eine hellblaue, alkoholische Lösung. Durch wiederholten Wechsel der Flüssigkeit gelingt es aber auch hier nicht den Farbstoff vollständig auszuziehen; im Gegenteil die Blätter sind sogar wenn der Alkohol nach länger andauerndem Kochen farblos bleibt, bei durch- fallendem Lichte noch schön blau gefärbt, und aus diesen Blättern erhält man mit Wasser noch eine dunkelblaue Lösung des Dipsacotins.

In Chloralhydrat ist der blaue Farbstoff ziemlich leicht löslich. Ob dabei unter Einfluss dieses Reagens chemische Umsetzungen des Dipsacusblaus stattfinden, weiß ich nicht. Viel weniger und nur bei Erwärmung wird es durch Phenol aus den Blättern extrahiert.

Das Dipsacotin ist weiter unlöslich in Äther, Chloroform, Benzin, Benzol, Xylol und Terpentin.

Um das Verhalten des Dipsacotins verschiedenen Re-

gentien gegenüber zu untersuchen, wurden Versuche sowohl mit blau gefärbten Blättern, aus denen das Chlorophyll entfernt worden war, wie mit wässriger Lösung gemacht. Es ergab sich, dass die anorganischen Säuren: Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure und Chromsäure das Dipsacusblau zersetzen. Mit Schwefelsäure wird die Farbe gelbbraun bis rötlich, mit Salpetersäure gelbbraun, mit Salzsäure anfangs grünblau, später sich in hellgelb ändernd und mit Chromsäure gelb. Durch die organischen Säuren: Essigsäure, Oxalsäure und Weinsäure wird die blaue Farbe der Blätter oder der wässerigen Lösung nicht verändert, sogar nicht beim Kochen. Aus den Blättern wird bei Erwärmung ein geringer Teil des Farbstoffes durch diese Säuren extrahiert und die Flüssigkeit färbt sich blau, am wenigsten bei Anwendung von Oxalsäure.

Ammoniak, Kali- und Natronlauge zersetzen das Dipsacotin, zunächst wird die Flüssigkeit grün, welche Farbe sich aber bei Überschuss der Base später in missfarbig braun verändert. Die durch Alkalien grün gefärbte Lösung wird bei Zusatz von Salzsäure, unter Vermeidung eines Überschusses, wieder blau. Weiter wird das Dipsacusblau zersetzt durch Eau de Javelle, Bromwasser, kohlensaures Natron, Eisenchlorid und Wasserstoffsuperoxyd unter Bildung anders gefärbter oder farbloser Produkte.

Erwärmung auf Temperaturen unter 100° C. erträgt das Dipsacotin auch im trocknen Zustande, über 100° C. dagegen wird dasselbe zersetzt. Werden blaue Blätter oder der durch Verdunstung aus der wässerigen Lösung erhaltenen Rückstand bis auf etwa 150° C. erwärmt, so entsteht ein rotbraunes, in Wasser leicht lösliches, in Alkohol, Äther und Chloroform unlösliches Produkt. Die schön rotbraun gefärbte wässrige Lösung reagiert sauer, Salzsäure und Salpetersäure rufen in derselben einen roten Niederschlag hervor, durch Schwefelsäure entsteht keine

Fällung und verändert die Farbe nicht, ebensowenig durch Essigsäure und Oxalsäure. Bei Zusatz von Ammoniak oder Kali- oder Natronlauge wird die Farbe der Flüssigkeit etwas dunkler, am meisten durch beide letztere Reagentien; Chloralhydrat verändert die Lösung nicht merkbar, Eau de Javelle dagegen entfärbt dieselbe rasch.

Das Licht übt ebenfalls einen zersetzen den Einfluss auf das Dipsacotin aus. Die wässrige und die alkoholische Lösung entfärben sich in diffusem Tageslicht innerhalb weniger Tage und die Flüssigkeiten werden hellgelb. Viel langsamer ist die Einwirkung des Lichtes auf die trocknen, blauen Blätter, aber dennoch ist nach einigen Wochen der Unterschied zwischen im Licht und im Dunklen aufbewahrten Blättern sehr deutlich.

K A P. II.

Das Dipsacan, das in der Pflanze vorhandene Chromogen.

§ 1. DIE EIGENSCHAFTEN DES DIPSACANS.

Im I. Kapitel habe ich schon ausführlich die Eigenschaft des Dipsacans, unter bestimmten Bedingungen das Dipsacotin zu bilden, besprochen. Ich werde hier jetzt noch hinzufügen was die Untersuchungen mich ferner über die Eigenschaften dieses Chromogens gelehrt haben.

Wie ich früher bereits erwähnte, ist das Dipsacan in heissem Wasser löslich, mit kaltem aber lässt es sich nur äusserst schwer aus den Blättern extrahieren und

es gelingt nicht alles Chromogen auszuziehen, sogar nicht nach mehreren Wochen unter fortwährend erneutem Zusatz von Wasser. Dass die Menge des in den Blättern vorhandenen Dipsacans nach langem Verweilen in kaltem Wasser dennoch vermindert, muss vielleicht chemischen Umsetzungen des Chromogens, infolge des langsamem Absterbens zugeschrieben werden, denn es ist nicht durch das Wasser extrahiert worden. Es gelingt nämlich nicht durch Erwärmung Dipsacotin im Wasser zu bilden, die Flüssigkeit wird nach langem Kochen schmutzig braun.

Bei einer Temperatur von 60° C. und höher löst das Dipsacan sich aber leicht, in einigen Stunden ist das Chromogen fast vollständig extrahiert, beim Kochen sogar innerhalb einer Stunde. Sorgt man dafür, dass die Extraktion ohne Zutritt von Luft stattfindet, so wird die Umsetzung des Dipsacans in Dipsacotin, welche sonst bei Anwesenheit von Sauerstoff bei der hohen Temperatur stattfindet, verhindert. Zur Erhaltung der wässerigen Lösung empfiehlt es sich bei etwa 60° C. zu extrahieren, denn bei der Extraktion durch Kochen findet, wie oben bei der Besprechung der Bildung des *Dipsacusblaus* mitgeteilt wurde, schon eine teilweise Umsetzung des Chromogens statt.

In Alkohol ist das Dipsacan auch bei der gewöhnlichen Temperatur löslich. Nach einigen Tagen ist das Chromogen vollständig aus den Blättern extrahiert und dieselben bleiben, im feuchten Raum erwärmt, farblos. Dass das Dipsacan indertat gelöst und nicht zersetzt wird, zeigt sich bei Erwärmung des wässerigen Alkohols. Zwar wird zugleich mit dem Chromogen auch das Chlorophyll extrahiert und erscheint die kalte Flüssigkeit demzufolge schon grün gefärbt, aber die grüne Farbe des Chlorophylls verändert sich bei länger andauernder Erwärmung in gelbbraun. Bei der Vergleichung des alkoholischen Extraktes aus *Dipsacusblättern* mit demjenigen aus Blättern einer

anderen Pflanze ist es deutlich, dass sich in ersterem durch die Erwärmung ein blauer Farbstoff gebildet hat.

In Äther ist das Dipsacan bei gewöhnlicher Temperatur ein wenig löslich. Wird die Flüssigkeit, in welcher während mehrerer Tage zerschnittene *Dipsacus*-Blätter verweilt haben, bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet und der Rückstand darauf mit Wasser gekocht, so färbt sich diese Flüssigkeit nach einigen Stunden blau. Die Blätter selbst enthalten auch noch ein wenig Dipsacan, denn sie werden beim Erwärmen im feuchten Raum blau, aber weniger als ohne Extraktion mit Äther.

Benzol und Chloroform lösen das Dipsacan nicht. Nachdem Blätter tagelang darin verweilt haben, können dieselben noch ebenso intensiv blau gefärbt werden wie ohne vorhergehende Behandlung mit diesen Flüssigkeiten und der durch Verdunstung des Benzols oder des Chloroforms erhaltene Rückstand wird selbst nach stundenlangem Kochen mit Wasser nicht blau.

Für weitere Untersuchungen über die Eigenschaften des Dipsacans habe ich die wässrige Lösung, das heisst das ohne Zutritt von Luft erhaltene Extrakt benutzt, weil bei diesem Studium der Gebrauch der Lösung dem der Blätter vorzuziehen ist; stets wurden aber zur Vergleichung auch lebende Blätter angewendet.

Das Extrakt ist eine hellgelbe, sauer reagierende Flüssigkeit von bitterm Geschmack. Diese Eigenschaften können aber auch anderen, zugleich mit dem Dipsacan extrahierten Stoffen zugeschrieben werden müssen. Bei gewöhnlicher Temperatur bleibt die Flüssigkeit, auch beim freien Zutritt der Luft, unverändert; bei Erwärmung bis auf 60°—100° C. in einem offenen Gefäß färbt die Lösung sich zunächst braun, darauf braungrün und schliesslich schön blau infolge der Bildung des Dipsacotins. Beim Kochen findet die Bildung des Blaus schon innerhalb einer

Stunde statt, bei niedrigerer Temperatur dauert es länger. Wird die Lösung des Dipsacans im luftfreien Raum gekocht, so wird dasselbe, wie bereits mitgeteilt wurde, umgesetzt unter Bildung eines gelbroten Produktes.

Bei Zusatz von Ammoniak, Kali- oder Natronlauge bis die Lösung schwach alkalisch reagiert, wird dieselbe anfangs goldgelb und nach einiger Zeit schön grün, letzteres aber nur bei freiem Zutritt der Luft. Erwärmung fördert die Bildung des grünen Farbstoffes. Bei Zusatz sowohl einer anorganischen wie einer organischen Säure wird diese grüne Flüssigkeit gelb bis farblos; durch Hinzufügung eines Alkalis kehrt das Grün aber wieder zurück. Mit Alkali in Überschuss versetzt, bleibt die grüne Färbung des Extraktes aus und die goldgelbe Farbe der Flüssigkeit verwandelt sich allmählich in eine missfarbig dunkelbraune.

Säuren, sowohl anorganische wie organische, zersetzen das Dipsacan. Wird die wässrige Lösung mit Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Chromsäure, Essigsäure, Weinsäure oder Oxalsäure versetzt, so wird bei Erwärmung kein Dipsacusblau mehr gebildet. Ebenfalls haben Blätter, welche während einiger Zeit in einer dieser Säuren verweilt haben, die Fähigkeit sich bei Erwärmung im feuchten Raum blau zu färben, verloren. Das nämliche gilt für Eau de Javelle, kohlensaures Natron, Kaliumpermanganat, Eisenchlorid, Wasserstoffsuperoxyd, Bromwasser, Chloralhydrat und Terpentin. Auch durch diese Reagentien wird das Dipsacan, sowohl in lebenden Blättern wie in der wässrigen Lösung derart zersetzt, dass die Bildung von Dipsacotin verhindert wird.

Die Einwirkung von Phenol und Benzin auf das Dipsacan ist bereits im I. Kapitel besprochen. Diese Stoffe zersetzen ebenfalls das Chromogen, und zwar verursachen sie gerade diejenige Umsetzung durch welche Dipsacus-

blau entsteht. Sowohl bei Phenol wie bei Benzin beschränkt die Wirkung des Reagenz sich auf die Bildung des Produktes, das durch Oxydation den blauen Farbstoff liefert. Wird die wässerige Lösung des Dipsacans mit Benzin oder Phenol durch mehrere Tage in einem vollkommen von der Luft abgeschlossenen Gefäss belassen, so entsteht kein Dipsacusblau, wohl aber wenn die Luft zutreten kann.

Wie ich in der Einleitung betonte, habe ich kein eingehendes Studium der chemischen Natur des Dipsacans gemacht. Weil aber mehrere Chromogene zur Reihe der Gerbstoffe gehören oder nahe mit denselben verwandt sind, habe ich dennoch die Gerbstoffreagentien angewandt. Mikrochemisch hat sich mit der Moll¹⁾schen Reaktion, mit Kupferacetat und darauffolgender Behandlung mit Eisenacetat, ergeben, dass in den *Dipsacus*-Blättern Gerbstoff vor kommt. In der Mittelrippe hauptsächlich an der Basis finden sich ausserhalb des Phloëmteils des Gefässbündels einige Gerbstoffzellen. Bisweilen kommt auch in einigen Zellen der Epidermis Gerbstoff vor.

Das Extrakt der Blätter wird bei Zusatz von Eisenchlorid grünlich, bei Anwendung eines Überschusses verändert die grüne Farbe sich in eine braune. Eisenacetat bewirkt in dem Extrakt eine dunkelgrüne Fällung. Kaliumbichromat dagegen ruft keinen Niederschlag hervor und ebenso wenig verdünnte Chromsäure. Der in den Blättern vorhandene Gerbstoff wird also extrahiert, und dieser Gerbstoff gehört zu denjenigen, welche keine Fällung mit Kaliumbichromat und Chromsäure geben.

Obgleich in den Blättern und im Extrakt Gerbstoff vorhanden ist, steht derselbe dennoch nicht im Zusammenhang mit dem Dipsacan. Schon die geringe Anzahl, der

1) J. W. Moll, Eene nieuwe microchemische looizuurreactie. Maandbl. v. Natuurwet. Jaarg. 11, 1884, S. 97.

nur an einzelnen Stellen sich vorfindenden Gerbstoffzellen deutet darauf hin. Die Tatsache aber, dass in isolierten Blattstücken, welche vollkommen gerbstofffrei sind, Dipsacan nachgewiesen werden kann, beweist, dass das Dipsacan nicht zur Reihe der Gerbstoffe gehört.

Der Einfluss der Temperatur auf das Dipsacan ist, wie wir schon oben sahen, ein sehr verschiedener je nachdem Wasser und Sauerstoff vorhanden sind oder nicht. Im feuchten Raum wird, bei freiem Zutritt der Luft, bei der Erwärmung Dipsacotin aus dem Chromogen gebildet, und wenn die Luft ausgeschlossen wird, entsteht ein Produkt, das auch bei Zimmertemperatur durch Oxydation in Dipsacusblau übergeht. Im trocknen Zustande dagegen bleibt das Dipsacan bei höherem Wärmegrad, sogar bei 100° C. unverändert, sowohl im luftfreien Raum wie bei der Anwesenheit von Luft. Blätter, welche bei der Erwärmung so schnell getrocknet werden, dass der Bildung von Dipsacusblau vorgebeugt wird, färben sich blau, wenn sie nachher in den feuchten erwärmten Raum gestellt werden. Das Dipsacan ist dann, trotz dem Austrocknen und der hohen Temperatur nicht zerstört. In trocknem Zustande kann das Dipsacan sich sehr lange in den Blättern halten. Getrocknete Blätter haben nach Jahren noch die Fähigkeit sich blau zu färben, freilich nicht so intensiv blau wie lebende. Es gelang mir aber Blätter, welche vor mehr als 40 Jahren getrocknet wurden, nach Aufweichen in Wasser durch Erwärmung noch deutlich blau zu färben.

**§ 2. DIE ABHÄNGIGKEIT DER IN DEN BLÄTTERN
VORKOMMENDEN DIPSACANMENGE VON INNEREN
UND ÄUSSEREN FAKTOREN.**

Bei den Beobachtungen über die Bildung des Dipsacotins aus dem Dipsacan fiel es mir auf, dass die Intensität der blauen Farbe der verschiedenen Blätter sogar beim nämlichen Versuch, variieren konnte. Die Menge des vorhandenen Chromogens kann also eine verschiedene sein und ich habe deshalb untersucht von welchen Faktoren diese Menge abhängt. Sobald die chemische Natur des Dipsacans bekannt ist und man eine Methode gefunden hat dasselbe quantitativ zu bestimmen, wird der Einfluss von äusseren und inneren Bedingungen auf das Vorkommen dieses Chromogens genauer studiert werden können. Vorläufig aber reicht die Vergleichung der Intensität der blauen Farbe, welche die Pflanzenteile bei Erwärmung im feuchten Raum erhalten, vollkommen hin um einige Versuche in dieser Richtung zu machen.

Bei Anwendung dieser Methode hat sich gezeigt, dass die jüngsten Blätter die verhältnismässig grösste Menge von Dipsacan enthalten. In der Wurzelrosette nimmt der Gehalt von den jüngsten, eben gebildeten Blättern an bis zu den ältesten, äussersten fortwährend ab. Während in den jüngeren Blättern so viel Dipsacusblau entsteht, dass dieselben fast schwarz erscheinen, werden sehr alte Blätter nur hellblau. In denjenigen Teilen, wo das Wachstum am kräftigsten ist, befindet sich also relativ die grösste Menge von Dipsacan. Beim Älterwerden der Blätter nimmt der Dipsacangehalt also allmählich ab, aber in einem erwachsenen, kräftig vegetierenden Blatte ist die Menge des Chromogens stets noch so gross, dass das Blatt bei Umsetzung des Dipsacans in Dipsacotin dunkelblau gefärbt wird. Erst wenn das Blatt abzusterben

anfängt, verschwindet das Chromogen nach und nach. Ist das Blatt ganz oder teilweise abgestorben, so ist kein Dipsacan mehr vorhanden. Ob das Dipsacan nach anderen Teilen der Pflanze fortgeführt oder vernichtet wird, kann ich nicht entscheiden. Jedenfalls wird es nicht infolge des Absterbungsprozesses vernichtet, denn die Menge nimmt nicht erst ab, nachdem dieser Prozess angefangen hat, sondern schon lange Zeit vorher. Zudem haben wir oben gesehen, dass mit dem Absterben durchaus nicht notwendigerweise das Verschwinden des Dipsacans Hand in Hand zu gehen braucht, denn in jungen Blättern ist das Chromogen auch nach dem Tode durch Trocknen bei Zimmertemperatur noch vorhanden. Es ist möglich, dass das Dipsacan in den Lebensprozessen eine derartige Rolle spielt, dass es fortwährend dem Aufbau und der Zersetzung unterworfen ist und dass es in älteren Pflanzenteilen nicht in so grosser Menge wieder gebildet wird wie in den jüngeren, noch wachsenden, wo es beim Stoffwechsel in grösserer Menge nötig ist.

Die relative Menge des in einem Blatte vorhandenen Dipsacans hängt nicht nur vom Alter des Blattes ab, sondern auch von äusseren Bedingungen, welchen die Pflanze ausgesetzt ist. An erster Stelle übt die Temperatur Einfluss darauf aus. Wurzelrosetten von *Dipsacus sylvestris* und *fullonum* überwintern leicht im Freien, zwar sterben die äusseren, älteren Blätter ab, aber die jüngeren halten meistens den Winter aus. Untersucht man die jüngeren Blätter, nachdem es einige Zeit Frostwetter gewesen ist, so ergibt sich, dass dieselben weniger Dipsacan enthalten als wenn die Temperatur höher ist und die Lebensprozesse kräftiger stattfinden. Auch bei sehr hoher Temperatur, wie 30°—40° C. ist die Menge des vorhandenen Chromogens geringer als bei normaler Temperatur, obgleich die Pflanzen bei diesem hohen Wärmegrad ein sehr kräftiges

Wachstum zeigen. Sowohl bei sehr hohen wie bei sehr niedrigen Temperaturen, welche sich der Lebensgrenze nähern, das heisst unter für die Pflanze ungünstigen Bedingungen, nimmt also die Menge des Dipsacans in den Blättern ab. Bei welcher Temperatur die Chromogenmenge ihr Maximum zeigt, ist mir nicht bekannt. Die Methode zur Bestimmung der Menge des Dipsacans durch die Intensität der blauen Farbe ist nicht genau genug um dies zu untersuchen. Dazu wird es nötig sein das Dipsacan quantitativ bestimmen zu können.

Das Licht übt keinen unmittelbaren Einfluss auf die Menge des in den Blättern vorkommenden Dipsacans aus. Werden einige Blätter einer im Lichte stehenden Pflanze ganz oder teilweise mittels schwarzem Papier verdunkelt, so ist darin sogar nach einigen Wochen keine Verminde-
rung des Chromogens merkbar. Auch enthalten die jüngsten, im Dunklen gebildeten Blätter einer ganz verdunkelten Pflanze eben so viel Dipsacan wie die jüngsten Blätter der im Lichte wachsenden Pflanzen, obgleich er-
stere vollkommen etioliert sind. Die im Dunklen neu gebildeten Blätter erhalten ihr Dipsacan nicht aus den älteren, grünen, denn auch wenn vor der Verdunkelung alle Blätter entfernt werden, enthalten die zuerst im Dunklen gebildeten dennoch Dipsacan. Die später im Dunklen auftretenden Blätter dagegen enthalten merklich weniger Chromogen und zudem verschwindet es nach einiger Zeit allmählich aus den vor der Verdunkelung schon vorhandenen, grünen Blättern. Aus diesen Beobach-
tungen geht hervor, dass das Dipsacan unabhängig vom Lichte in älteren Blättern bestehen, in neu gebildeten auf-
treten kann und zudem, dass das Vorkommen desselben unabhängig von der An- oder Abwesenheit von Chlorophyll ist. Wenn aber infolge länger andauernden Etoilements die Lebensbedingungen der Pflanze ungünstig werden,

wird demzufolge kein neues Chromogen gebildet und das schon Vorhandene verschwindet wieder. Das Licht ist also nicht direkt für die Bildung und das Fortbestehen des Dipsacans notwendig, sondern übt nur indirekt Einfluss darauf aus wie auf viele andere Lebensprozesse.

§ 3. DIE LOKALISATION DES DIPSACANS.

Die oben beschriebenen Untersuchungen beziehen sich alle auf die Wurzelblätter von *Dipsacus sylvestris* und *fullonum*. Das Dipsacan ist aber nicht auf diese Organe beschränkt, sondern kommt auch in anderen Teilen dieser Pflanzen vor. Es findet sich ebenfalls in den Stengelblättern und weiter in den Knospen, im Stengel und in der Wurzel, sowohl in der Hauptwurzel wie in den Nebenwurzeln. Auch enthalten die Hüll- und Spreublätter der Köpfchen Dipsacan, ebenso wie die Blumenkrone. Der Samen enthält ebenfalls Dipsacan. Das nach Entfernung des Aussenkelches und der Samenhaut isolierte Endosperm mit dem Embryo färbt sich bei Erwärmung im feuchten Raum deutlich blau, und bei anfangender Keimung des Samens, wenn die Wurzel eben sichtbar ist, lässt sich in derselben schon das Dipsacan nachweisen. Bei der Keimplanze findet das Chromogen sich ebenfalls im Hypokotyl und in den Kotyledonen.

Aus dem Gesagten ergibt sich, dass alle Organe der Pflanze Dipsacan enthalten. Der Chromogengehalt ist aber in den verschiedenen Teilen ein verschiedener. Knospen, Blätter und Stengel besitzen den grössten Gehalt an Dipsacan, und die bei den Wurzelblättern gefundene Regel, dass mit dem Alter die Dipsacanmenge abnimmt, trifft auch bei den anderen Organen zu; die jungen Stengel und Wurzeln enthalten viel mehr Dipsacan als die älteren.

Ausser in den verschiedenen Organen habe ich auch die Verbreitung des Dipsacans in den verschiedenen Geweben

derselben studiert. Hierzu habe ich die einzelnen Gewebe oder Gewebekomplexe aus dem Blatte, dem Stengel und aus der Wurzel isoliert und diese Gewebestücke im feuchten Raum jedes für sich erwärmt um zu verhüten, dass das in dem einen Gewebe gebildete Dipsacotin in andere des nämlichen Organs überging. Diese Untersuchung hat ergeben, dass das Dipsacan in allen Teilen des Blattes vorkommt, sowohl in der Epidermis, wie im Mesophyll und in den Blattrippen. Nach der Intensität der Blaufärbung zu urteilen, findet sich die grösste Menge im Gefäßbündel, besonders im Kambium und Phloëm und weiter in der Epidermis und in der darunter liegenden kollenchymatischen Schicht.

Im Stengel enthalten alle Gewebe, das Mark ausgenommen, Dipsacan. Sowohl der noch lebende äussere, wie der abgestorbene innere Teil desselben ist dipsacanfrei. Die Stengel besitzen ein relativ grosses Mark, das sich leicht isolieren lässt. Dasselbe bleibt bei der Erwärmung vollkommen farblos, während die übrigen Gewebe, Epidermis, Rinde, Phloëm und Xylem sich dunkelblau färben. In älteren, dicken Stengeln sind Phloëm und Rinde am dipsacanreichsten und weiter enthalten das primäre und das jüngere sekundäre Xylem eine grössere Menge als das ältere sekundäre Holz.

In der Wurzel ist das Mark zu klein um isoliert zu werden. In dicken Querdurchschnitten färben die vorhandenen Markzellen sich gleich wie die anderen Gewebe blau. Ich kann aber nicht sagen ob dieses vom Dipsacan der Markzellen selbst herrührt, oder ob der Farbstoff vielleicht aus benachbarten Geweben stammt. In jungen Wurzeln enthalten Epidermis, Rinde, Phloëm und Xylem alle Dipsacan, in älteren ist es auf die äussersten Zellschichten und das Kambium beschränkt. Phloëm und Xylem derselben sind dipsacanfrei.

Was die Lokalisation des Chromogens in der Zelle betrifft, so geht aus der Tatsache, dass das *Dipsacusblau* nicht in der Zellwand vorkommt hervor, dass auch das Dipsacan sich wahrscheinlich nicht in der Wand befindet. Auch fehlt den Wänden die Fähigkeit das Dipsacotin zu absorbieren, denn sogar in dunkelblau gefärbten Blättern sind die Zellmembranen vollkommen farblos. Dagegen findet man das bei der Bildung des *Dipsacusblaus* durch die Erwärmung getötete und kontrahierte Protoplasma und der darin liegende Kern und etwaige Chlorophyllkörper blau gefärbt. Ob das Dipsacan in der lebenden Zelle im Protoplasma oder im Zellsaft vorkommt, bleibt durch diese Beobachtungen unentschieden. Es ist möglich, dass nachdem aus dem im Zellsaft vorkommenden Dipsacan *Dipsacusblau* gebildet und die Zelle zugleich getötet ist, dieser Farbstoff in das Protoplasma und den Kern eindringt. Aber es ist ebensogut möglich, dass das Dipsacan im Protoplasma und Kern selbst vorhanden ist. Sicher ist nur, dass das Dipsacan nicht immer am Chloroplast gebunden ist, denn es kommt auch in chlorophyllfreien Zellen vor.

K A P. III.

Die Dipsacase, das Dipsacan umsetzende Enzym.

In den *Dipsacusblättern* kommt ausser dem Dipsacan ein Enzym vor, das die Fähigkeit besitzt das Chromogen umzusetzen und zwar derart, dass dasjenige Produkt gebildet wird, welches durch Oxydation das Dipsacotin liefert. Die Dipsacase ist also imstande die nämliche Umsetzung des Dipsacans zu verursachen wie Erwärmung.

Das Enzym kann aus den Blättern erhalten werden nach der von Beyerinck¹⁾ vorgeschlagenen Methode zur Darstellung des Enzyms der indigoliefernden Pflanzen. Dazu werden die in kleine Teile zerhackten lebenden Blätter mit Alkohol so lange gerieben, bis das Chlorophyll vollkommen entfernt ist und ein weisses Pulver zurückbleibt. Bei dieser Behandlung wird das Dipsacan ebenfalls extrahiert und im Rückstand befindet sich das Enzym. Wird ein wenig dieses Rohenzyms in das durch Erwärmen im luftfreien Raum erhaltene Extrakt gebracht, so verändert sich die hellgelbe Farbe der Flüssigkeit nach einigen Stunden in dunkler rotgelb, gleich wie beim Kochen ohne Zutritt der Luft. Wird aber das Enzym zuvor auf 100° C. erwärmt, dann bleibt das Extrakt unverändert. Dieses beweist, dass es sich hier indertat um eine Enzymwirkung handelt. Durch die hohe Temperatur hat das Enzym seine Wirksamkeit verloren.

Welche die Temperaturgrenzen der Wirksamkeit der Dipsacase sind und bei welchem Wärmegrad dieses Enzym das Maximum seiner Umsetzungsfähigkeit zeigt, habe ich nicht untersucht. Ich will hier nur das Vorhandensein des Enzyms hervorheben; weitere Untersuchungen müssen Näheres darüber lehren.

Wenn die durch das Enzym im Extrakt verursachte Umsetzung in einem offenen Gefäß stattfindet, folgt auf diese Umsetzung die Oxydation des gebildeten Produktes und entsteht Dipsacotin. Wie ich aber oben bereits mitteilte, erfolgt die Oxydation bei Zimmertemperatur sehr langsam.

Vielleicht ist die in der Einleitung genannte, von de Vries²⁾ beobachtete Erscheinung, dass der ausgepresste

1) M. W. Beyerinck, l. c. S. 94.

2) Hugo de Vries, l. c.

Saft von *Dipsacus fullonum* an der Luft nach einigen Tagen schwarz wird, so zu erklären, dass sich im Saft ausser dem Dipsacan auch Dipsacase befindet, welche das Chromogen umsetzt, worauf die Oxydation stattfindet. Dass der Saft schwarz und nicht blau wird, muss vielleicht anderen beigemischten Stoffen oder zugleich auftretenden chemischen Umsetzungen zugeschrieben werden.

KAP. IV.

Die Verbreitung des Dipsacans und Dipsacotins im Pflanzenreiche.

Ausser *Dipsacus sylvestris* und *Dipsacus fullonum*, welche zur vorliegenden Untersuchung dienten, habe ich das Dipsacan noch in vielen anderen Pflanzen nachweisen können. Dieses geschah durch die Bildung von Dipsacotin im Pflanzenteil mittels Erwärmung im feuchten Raum. In mehreren Fällen habe ich nur die Keimpflanzen untersucht, man findet das hinter dem Pflanzennamen durch K angedeutet.

Von den im Index Kewensis angegebenen 19 *Dipsacus*-Arten standen mir 12 zur Verfügung. Alle diese verhalten sich vollkommen in der nämlichen Weise wie *Dipsacus sylvestris* Mill. und *D. fullonum* Linn. Es sind ausser diesen zwei Spezies: *D. asper* Wall., *D. azureus* Schrenk, *D. ferox* Loisel., *D. appendiculatus* Steud., *D. atratus* Hook., *D. inermis* Wall., *D. strigosus* Willd., *D. pilosus* Linn., *D. laciniatus* Linn. und eine nicht näher angedeutete *Dipsacus*-Art aus der Himalaya.

Das Dipsacan ist nicht auf die *Dipsacus*-Arten beschränkt, sondern kommt auch in anderen Genera vor. Ich habe es in den folgenden Pflanzen nachweisen können:

Succisa inflexa Schur., *S. pratensis* Moench. K und erwachsene Pflanze, *S. australis* Reichb. K und erwachsene Pflanze;

Scabiosa Pterocephala Linn. K, *Sc. Fischeri* DC. K, *Sc. graminifolia* Linn. K, *Sc. triniaefolia* Frivald. K, *Sc. ucranica* Linn. K, *Sc. sicula* Linn. K, *Sc. suaveolens* Desf. K, *Sc. maritima* Linn., *Sc. caucasica* Bieb., *Sc. plumosa* Sibth. K und erwachsene Pflanze, *Sc. ochroleuca* Linn. K und erwachsene Pflanze;

Knautia arvensis Coult. K, *Kn. arenaria* Forsk. K, *Kn. Drymeja* Heuff. K, *Kn. cuspidata* Jord. K, *Kn. hybrida* Coult. K, *Kn. magnifica* Boiss. K und erwachsene Pflanze;

Astrocephalus palaestinus Spreng. K, *As. stellatus* Spreng. K, *As. acutiflorus* Reichb. K und erwachsene Pflanze, *As. brachiatus* Reichb. K und erwachsene Pflanze;

Pterocephalus plumosus Coult. K;

Trichera sylvatica Schrad. K;

Cephalaria leucantha Schrad. K, *C. attenuata* Roem. et Schult. K, *C. transylvanica* Schrad. K, *C. procera* Fisch. K, *C. Joppensis* Coult. K, *C. corniculata* Roem. et Schult. K, *C. graeca* Roem. et Schult. K, *C. radiata* Griseb. et Schenk. K, *C. uralensis* Roem. K, *C. cretacea* Roem. K, *C. centaurioides* Coult., *C. tatarica* Schrad. K und erwachsene Pflanze, *C. alpina* Schrad. K und erwachsene Pflanze, *C. Vaillanti* Schott. K und erwachsene Pflanze.

Aus dieser Aufzählung ergibt sich, dass das Dipsacan in mehreren Genera der Familie der *Dipsaceae* vorkommt. In keiner einzigen der von mir untersuchten Pflanzen aus dieser Familie fehlt es und hieraus schliesse ich, dass der Besitz von Dipsacan ein die Familie der *Dipsaceae* charakterisierendes Merkmal ist.

Im allgemeinen sind die *Dipsacus*-Arten am dipsacan-reichsten, Während bei diesen auch erwachsene Blätter und Stengel so viel Chromogen enthalten, dass dieselben sich dunkelblau färben können, kommt es, bei einigen Arten der anderen Gattungen nur in den jüngsten Teilen wie in der Keimpflanze, in Knospen und in Wurzeln vor.

Um die Frage zu lösen, ob das Dipsacan noch weiter im Pflanzenreich verbreitet ist, habe ich etwa 80 Spezies aus mehreren Familien untersucht, aber alle, mit Ausnahme einer einzigen Spezies, mit negativem Erfolge. Nur bei *Scaevola Koenigii* Vahl., zur Familie der *Goodeniaceae* gehörend, fand ich sowohl in der Keimpflanze wie in der erwachsenen Pflanze nach Erwärmung in feuchter Luft einen blauen Farbstoff, welcher in seinen Eigenschaften mit Dipsacotin übereinstimmt. Das Chromogen der genannten Pflanze ist also ohne Zweifel Dipsacan. Andere Spezies derselben Gattung oder Familie standen mir leider nicht zur Verfügung. Das Vorkommen des Dipsacans bei der Familie der *Goodeniaceae* ist deshalb wichtig, weil die Stellung dieser Familie im Pflanzensystem nicht weit entfernt von der der Familie der *Dipsaceae* ist; die *Goodeniaceae* gehören nämlich zur Ordnung der *Campanulinae*.

Während die indigoliefernden Pflanzen sehr verschiedenen Familien angehören, ist das Vorkommen des Dipsacans auf zwei einander nahe stehende Familien beschränkt und der Besitz dieses Chromogens hat also einige systematischen Wert.

K A P. V.

Schlussbemerkungen.

In der Einleitung habe ich schon erwähnt, dass die *Dipsaceae* eine gewisse Übereinstimmung mit den Indigo-pflanzen zeigen, weil sie wie letztere ein Chromogen enthalten, aus welchem nach dem Absterben der Pflanze ein blauer Farbstoff gebildet werden kann. Ausserdem ist, wie die oben beschriebenen Untersuchungen gelehrt haben, die Weise, wie der Farbstoff aus dem Chromogen hervorgeht, bei beiden Pflanzengruppen im grossen und ganzen die nämliche. Sowie bei den indigoliefernden Pflanzen entsteht der Farbstoff bei den *Dipsaceae* erst nach Umsetzung des Chromogens durch darauffolgende Oxydation des gebildeten Produktes. Auch enthalten die Pflanzen beider Gruppen ein Enzym, das die Fähigkeit besitzt das Chromogen zu spalten, und ebenso wie in der lebenden Indigopflanze keine wahrnehmbare Menge von Indigo vorkommt, ist auch bei den *Dipsaceae* das Dipsacotin während des Lebens nicht nachweisbar. Die grösste Übereinstimmung zeigt das Dipsacan mit dem von Beyerinck¹⁾ beschriebenen Isatan, weil es wie letzteres in schwach sauren Lösungen haltbar ist, aber nicht in alkalischen; im Gegensatz zum Indican, dem Chromogen anderer Indigopflanzen, welches in alkalischen Lösungen unverändert bleibt, in sauren dagegen umgesetzt wird. In seinen übrigen Eigenschaften unterscheidet das Dipsacan sich sowohl vom Indican als auch vom Isatan, zumal dadurch, dass aus diesem Chromogen ein anderer Farbstoff hervorgeht. Während Indican und Isatan Indigo

1) M. W. Beyerinck, l. c. S. 78.

liefern, entsteht aus Dipsacan Dipsacotin, welches sich schon durch seine Löslichkeit in Wasser und sein Verhalten Schwefelsäure gegenüber von Indigo unterscheidet. Auch ist das Dipsacan nicht identisch mit dem von Molisch¹⁾ bei einigen *Acanthaceae* gefundenen Pseudoindican, das ebenfalls einen blauen Farbstoff liefert. Dieser Farbstoff entsteht bei sehr niedriger Temperatur und bei Verletzung der Pflanze, ferner durch Kochen mit verdünnter Salzsäure und wird u. a. auch entfärbt durch Essigsäure und Oxalsäure und durch Erwärmung bis zur Siedehitze, während der Farbstoff in so hohem Grade labil ist, dass derselbe sich schon nach sehr kurzer Zeit verfärbt. In allen diesen Punkten unterscheidet das Dipsacusblau sich von dem aus Pseudoindican gebildeten Farbstoff und diese zwei Stoffe sind somit verschiedener Art.

Wie oben mitgeteilt wurde, kommt das Dipsacan in grosser Menge allgemein verbreitet in den verschiedensten Organen und Geweben, am meisten aber in den wachsenden Teilen vor. Dies deutet darauf hin, dass das Dipsacan ein für die Pflanze wichtiger Stoff ist, welcher eine physiologische Bedeutung hat. Das Vorhandensein des Dipsacans in etiolierten Blättern und in Wurzeln zeigt, dass dasselbe von der Kohlensäureassimilation nicht unmittelbar abhängig ist. Die in der Pflanze vorkommende Quantität hängt aber von den allgemeinen Wachstumsbedingungen ab. In welcher Weise nun das Dipsacan am Stoffwechselprozess beteiligt ist, lässt sich, solange das Chromogen und die Umsetzungsprodukte nicht chemisch bekannt sind, nur vermuten. Es ist wahrscheinlich, dass sich in der Pflanze ein fortwährender Auf- und Abbau-

1) H. Molisch, Über Pseudoindican, ein neues Chromogen in den Cystolithenzellen von *Acanthaceen*. Sitzungsber. d. k. Akad. der Wiss. Wien, Bd. 108, 1899, S. 479.

prozess des Dipsacans vollzieht. Man wird sich vorstellen müssen, dass Umsetzungsprodukte des Dipsacans und zwar ohne Zweifel das durch Oxydation Dipsacusblau liefernde, bei bestimmten, wichtigen Lebensprozessen verwendet werden. Denn wäre das nicht der Fall, so würde diese Substanz sich bei der fortgehenden Spaltung des Dipsacans in der Pflanze anhäufen müssen, was nach meinen Befunden nicht der Fall ist. An denjenigen Stellen, wo dieses Produkt nötig ist, wird es durch das Enzym aus dem vorhandenen Dipsacan gebildet und aus der Tatsache, dass es nicht in der lebenden Pflanze zu Dipsacusblau oxydiert wird, muss man folgern, dass dasselbe sogleich auf andere Weisse weiter verarbeitet wird. Ich halte es für wahrscheinlich, dass das Dipsacan die Form ist, in welcher das beim Stoffwechsel benutzte Produkt, solange es nicht gebraucht wird, in der Pflanze aufbewahrt wird. Durch diese Hypothese ist sowohl die Anwesenheit des Enzyms wie die Tatsache, dass die lebende Pflanze kein Dipsacotin enthält, erklärt. Freilich bleibt bei dieser Vorstellung noch mancher Punkt unentschieden. Man könnte sich fragen, ob das Dipsacan an der nämlichen Stelle entsteht, wo es verbraucht wird, oder ob dies an verschiedenen Stellen stattfindet. Nähere Untersuchungen mit Hilfe genauerer Methoden zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Dipsacans und zudem Studien über die Lokalisation des Enzyms müssen die Antwort geben.

In der nämlichen Weise wie oben beschrieben, werden wahrscheinlich die Prozesse in den Indigopflanzen sich abspielen. Unsere Kenntniss der in diesen auftretenden chemischen Umsetzungen ist aber genauer. In den indican-führenden Pflanzen wird das Glukosid Indican durch das Enzym in Indoxyl und Glukose gespalten und das Indoxyl wird, bevor es oxydiert ist, weiter verarbeitet. Die Entscheidung darüber, ob das oxydierbare Spaltungsprodukt im

Dipsacan, entweder wie im Indican an Glukose gebunden ist und Dipsacan also zu den Glukosiden gehört, oder ob Dipsacan kein Zucker enthält, wie nach Beyerinck wahrscheinlich bei Isatan der Fall ist, muss vorläufig dahingestellt bleiben.

ZUSAMMENFASSUNG DER RESULTATE.

- 1) Die Familie der *Dipsaceae*, in sämtlichen darauf untersuchten Genera und Arten, ist charakterisiert durch den Besitz eines Chromogens, das Dipsacan.
- 2) Aus dem Dipsacan wird durch Erwärmung auf wenigstens 35° C., bei Anwesenheit von Wasser und Sauerstoff, ein blauer Farbstoff, das Dipsacotin, gebildet.
- 3) Die Bildung des Dipsacotins aus dem Dipsacan findet unter 100° C. desto rascher statt je höher die Temperatur ist.
- 4) Bei der Bildung der Dipsacotins aus dem Dipsacan wird dieses Chromogen infolge der Erwärmung umgesetzt und es bildet sich, unabhängig von der Anwesenheit von Sauerstoff, ein gelbrotes Produkt. Dieses Umsetzungsprodukt liefert bei Oxydation das Dipsacotin. Die Oxydation des Umsetzungsproduktes kann bei gewöhnlicher Temperatur stattfinden, wird aber durch Erwärmung beschleunigt.
- 5) Durch Einwirkung von Benzin oder Phenol auf das Dipsacan findet bei gewöhnlicher Temperatur die nämliche Umsetzung desselben statt wie durch Erwärmung, sodass aus dem gebildeten Produkte nach Oxydation ebenfalls Dipsacotin entsteht.
- 6) In der lebenden Pflanze wird entweder kein Dipsacotin

- gebildet, oder vorübergehend und in so geringer Menge, dass dasselbe nicht wahrnehmbar ist.
- 7) Das Dipsacotin entsteht nach dem Tode, nicht während des Absterbungsprozesses.
 - 8) Das Dipsacotin ist leicht löslich in Wasser, weniger leicht in Alkohol, Phenol, Essig-, Wein- und Oxalsäure, unlöslich in Äther, Chloroform, Benzin, Benzol, Xylool und Terpentin. Durch anorganische Säuren, Alkalien, kohlensaures Natron, Eisenchlorid, Eau de Javelle, Bromwasser und Wasserstoffsuperoxyd wird es zersetzt.
 - 9) Durch Erwärmung über 100° C. wird das Dipsacotin umgesetzt unter Bildung eines rotbraunen Produktes, das in Wasser löslich, in Alkohol, Äther und Chloroform unlöslich ist.
 - 10) Im Lichte entfärbt sich das Dipsacotin, und zwar am schnellsten in der wässrigen Lösung.
 - 11) Das Chromogen Dipsacan ist sehr schwer löslich in kaltem, viel leichter in heißem Wasser, ist auch bei gewöhnlicher Temperatur löslich in Alkohol und ein wenig in Äther, ist unlöslich in Benzol und Chloroform und wird sowohl durch anorganische wie durch organische Säuren zersetzt.
 - 12) In schwach saurer Lösung, wie im Extrakt oder Dekokt hält sich das Dipsacan, in neutraler oder alkalischer Lösung wird es rasch zersetzt.
 - 13) Durch Hinzufügung einer geringen Menge eines Alkalins entsteht aus dem Dipsacan ein gelbroter Stoff, der durch Oxydation in einen grünen verwandelt wird.
 - 14) Das Dipsacan kommt in allen Organen vor, der grösste Gehalt findet sich in den wachsenden Teilen.
 - 15) Alle Gewebe enthalten Dipsacan, ausgenommen das Mark des Stengels.
 - 16) Das Dipsacan kommt innerhalb der Zelle, nicht in der Zellwand vor.

- 17) Das Vorkommen des Dipsacans ist unabhängig vom Licht; unterirdische Organe und etiolierte Stengel und Blätter enthalten es.
- 18) Die Menge des vorhandenen Dipsacans hängt von den Wachstumsbedingungen ab, unter ungünstigen Umständen besitzt die Pflanze einen geringeren Dipsacangehalt.
- 19) Ausser dem Chromogen Dipsacan kommt in den *Dipsaceae* ein Enzym, die Dipsacase, vor, das die Fähigkeit besitzt das Dipsacan bei gewöhnlicher Temperatur umzusetzen unter Bildung eines Stoffes, der nach Oxydation Dipsacotin liefert. Die Dipsacase kann also die nämliche Umsetzung verursachen wie Erwärmung.
- 20) Unter den verschiedenen Genera der *Dipsaceae* sind die *Dipsacus*-Arten am dipsacanreichsten.

GRONINGEN, Aug. 1908.

INHALTSÜBERSICHT.

	Seite.
Einleitung	51
KAP. I. DAS DIPSACOTIN	57
§ 1. Die Bedingungen, unter welchen das Dipsacotin aus dem Dipsacan gebildet wird	57
§ 2. Die Eigenschaften des Dipsacotins	66
KAP. II. DAS DIPSACAN, DAS IN DER PFLANZE VORHANDENE CHROMÖGEN	69
§ 1. Die Eigenschaften des Dipsacans	69
§ 2. Die Abhängigkeit der in den Blättern vor kommenden Dipsacanmenge von inneren und äusseren Faktoren	75
§ 3. Die Lokalisation des Dipsacans	78
KAP. III. DIE DIPSACASE, DAS DIPSACAN UMSETZENDE ENZYM	80
KAP. IV. DIE VERBEREITUNG DES DIPSACANS UND DIPSACOTINS IM PFLANZENREICHE	82
KAP. V. SCHLUSSBEMERKUNGEN	85
Zusammenfassung der Resultate	88