

Kaliumsalz beruhte. Die freie Säure wies die charakteristischen Krystalle vom Schmp.  $135^{\circ}$  auf, war in 90-proz. Alkohol leicht, in Äther kaum löslich, zeigte für  $c=10$  in Wasser  $\alpha_D^{20}=+13.72^{\circ}$  und lieferte das gut krystallisierte, in Wasser so gut wie unlösliche Bariumsalz  $C_4H_4O_6Ba + 1 H_2O$  (gef. 5.85% Krystallwasser, 45.41% Ba, ber. 5.93 und 45.28%). — Die Bernsteinsäure war in geringster Menge anwesend und krystallisierte in den bekannten weißen Säulchen; sie schmolz bei  $180^{\circ}$ , begann bei  $235^{\circ}$  unter Anhydridbildung zu sublimieren und löste sich leicht in heißem Alkohol, wenig in Äther; das in Wasser fast unlösliche krystallisierte Salz  $C_4H_4O_4Ba$  enthielt 54.33% Ba (ber. 54.22%).

Vermutlich führen also die Vogelbeeren, je nach Varietät und Reifezustand, verschiedene Mengen verschiedener Säuren, und demgemäß erklären sich die auseinandergehenden Ergebnisse der Untersuchungen; die von H. Siber geprüften Früchte waren auf einem Hügel nächst Rositz (Sachsen-Altenburg) um Mitte August nach einem recht warmen und feuchten Sommer gesammelt.

### 335. A. W. van der Haar: Untersuchungen über die Saponine, VIII. Mitteilung: Die Saponine aus den Blättern von *Aralia montana* Bl. (Galakturonoid-Saponine, ihre Mg- und Ca-Salze).

(Eingegangen am 29. Juni 1922.)

#### Einleitung.

Von dem zur Familie der Araliaceae gehörenden Genus *Aralia* ist chemisch erst hier und da etwas bekannt geworden.

Holden<sup>1)</sup> wies in der Rinde von *Aralia spinosa* ein bitter schmeckendes, bei der Hydrolyse in Zucker und Araliretin sich spaltendes, von ihm Araliin genanntes Saponin nach. Lilly<sup>2)</sup> erhielt aus *Aralia spinosa* eine saponin-artige Substanz, ferner geringe Mengen eines campher-artig riechenden, sauer reagierenden Öles, einen Bitterstoff und ein Harz. Fick<sup>3)</sup> fand Inosit in Trieben und frischen Blättern von *Aralia papyrifera* und *Hedera helix*, Miyaki<sup>4)</sup> Guanin und Xanthin in den Schoten von *Aralia cordata*, Monroe<sup>5)</sup> im Rhizom von *Aralia californica* einen alkaloid-artigen Körper

<sup>1)</sup> L. H. Holden, Am. Journ. Pharm. 52, 390—391 [1880] und B. 14, 1112 [1881].

<sup>2)</sup> Lilly, nach Beckurts Jahresber. d. Pharm. 1882, 196.

<sup>3)</sup> R. Fick, nach Beckurts Jahresber. d. Pharm. 1887, 11.

<sup>4)</sup> Miyaki, Journ. Biol. Chem. 21, 507.

<sup>5)</sup> W. R. Monroe, Am. Journ. Pharm. 70, 489—492 [1898].

und ein gelbliches, neutral reagierendes, sehr aromatisch riechendes, ätherisches Öl. Alpers<sup>1)</sup> beobachtete im Rhizom von *Aralia nudicaulis* ein ätherisches Öl, dessen Hauptbestandteile ein Sesquiterpen, Aralien genannt (Sdp. 270°,  $d^{20}_D = 0.9086$ ,  $n^{18}_D = 1.49936$ ,  $\alpha_D = -7^\circ$  bis  $-8^\circ$ ), ein Alkohol ( $C_{15}H_{26}O$ ?) und ein wenig Azulen sind. Das wahrscheinlich bicyclische Sesquiterpen (Mol.-Refrakt. gef. 65.82, ber. 66.15) gibt mit Chloroform und Schwefelsäure eine violettrote, mit Essigsäure und Schwefelsäure eine weinrote Färbung. Danzel<sup>2)</sup> hat aus *Aralia japonica* Thunberg ein in Wasser unlösliches Saponin isoliert, das Aralin (krystallinisch, N-frei, Schmp. 260°,  $\alpha_D = +52.5^\circ$ ), das sich bei der Hydrolyse in *d*-Glucose und sauer reagierendes Aralidin (krystallinisch, Schm. 146—148°) spaltet.

Wentrup<sup>3)</sup> wies im Rhizom von *Panax repens* ein stark hämolytisch wirkendes Saponin nach, dem er die Formel  $C_{24}H_{40}O_{10}$  zuerteilte und das bei der Hydrolyse ein krystallinisches Sapogenin lieferte, welchem die Formel  $C_{14}H_{22}O_4$  gegeben wurde. Kondo und Amano<sup>4)</sup> haben aus dem koreanischen Ginseng das Panax-Saponin isoliert, das von alkoholischer Salzsäure in Panax-Sapogenol (krystallinisch, Schmp. 242.5°,  $\alpha^{19}_D = +20^\circ 12'$ , Formel  $C_{27}H_{48}O_3$ ), sowie in Glucose und eine Pentose gespalten wird. Das Sapogenol gibt die Liebermannsche Cholestol-Probe.

W. G. Boorsma<sup>5)</sup> fand in der Rinde von *Aralia montana* Bl., wie auch Greshoff<sup>6)</sup>, ein Saponin auf. Aus 17 g trockenem Material erhielt er nach seiner Methylalkohol-Methode ca. 100 mg eines fast farblosen Saponins, dessen wäßrige Lösung mit normalem Bleiacetat klar blieb, jedoch mit basischem Bleiacetat einen reichlichen Niederschlag gab. Boorsma schließt daraus auf die Anwesenheit nur eines Saponins. Das Saponin gab die Barytreaktion auf Saponine und die für diese Körperklasse charakteristische Violettfärbung mit Schwefelsäure. Bei der Hydrolyse mit Säuren wurde ein Niederschlag und ein Fehlingsche Lösung reduzierendes Filtrat erhalten. Eine Lösung des Saponins 1:10000 in 0.7-proz. NaCl-Lösung mit 1% defibriniertem Blut wurde in 10 Min. klar. Bei der Verdünnung 1:30000 zeigte es jedoch auch in 24 Stdn. keine Wirkung mehr.

### Chemische und pharmakologische Untersuchung des Saponins aus den Blättern von *Aralia montana* Bl.

Die Blätter von *Aralia montana* Bl. sind noch nicht in dieser Richtung untersucht worden. Als Material dienten mir zwei im Abstand von einigen Jahren eingetroffene Sendungen der getrockneten

<sup>1)</sup> W. C. Alpers, Am. Journ. Pharm. 71, 370—378 [1899].

<sup>2)</sup> L. Danzel, Journ. pharm. chim. [7] 5, 530—534 [1912].

<sup>3)</sup> F. Wentrup, Dissertat., Straßburg 1908.

<sup>4)</sup> H. Kondo und U. Amano, Journ. Pharm. Soc. Japan 1920, 1024—1043; Soc. 1921, 196; P. C. H. 1921, 171.

<sup>5)</sup> W. G. Boorsma, Mededeel. uit's Lands Plantentuin, Buitenzorg 52, 74 [1902].

<sup>6)</sup> M. Greshoff, Vischvergiften II, 86.

Blätter, die ich von Hrn. Dr. W. G. Boorsma in Buitenzorg erhielt, wofür ich ihm auch an dieser Stelle nochmals herzlich danke. Beide Substanzproben waren leider nicht groß: sie wogen nur 3 resp. 2.65 kg. Das zu untersuchende Material bestand aus Blättern und Stengeln; die Blätter waren auch mit dem Namen »Kiboeaja« versehen. Die zuerst erhaltene Partie von 3 kg, von welcher Dr. Boorsma mir angab, sie stammten vom Berge »Salak«, diente für die allgemein orientierende chemische Untersuchung, sowie für das Studium einiger pharmakologischer Eigenschaften des daraus erhaltenen Saponins und für die botanische Untersuchung, welche an anderer Stelle<sup>1)</sup> veröffentlicht werden soll. Die später erhaltene Partie von 2.65 kg war nach Dr. Boorsma im »Preanger«, wo die Pflanze hier und da an ziemlich schwer zugänglichen Orten im Walde wächst, während der trocknen Jahreszeit gepflückt. Die Blätter und Stengel dieser Sendung lieferten uns das Material, mit welchem die systematische chemische Untersuchung des Saponins selbst und auch seiner Spaltprodukte durchgeführt wurde.

#### A. Untersuchung der zuerst erhaltenen 3 kg Blätter und Stengel.

Es fiel mir auf, daß die Blätter, sowohl mit als auch ohne Stiele und Stengel kalziniert, in der Verbrennungasche einen ziemlich hohen Magnesium-Gehalt aufweisen: Das bei 110° getrocknete Blattpulver (ohne Stiele und Stengel) ließ bei der Verbrennung 8.51 % einer Asche zurück, welche zu 8.66 % aus MgO bestand, entspr. 0.737 % MgO in den getrockneten Blättern. Das bei 110° getrocknete Stiel- und Stengelpulver gab bei der Verbrennung 5.39 % einer Asche, die zu 12.15 % aus MgO bestand, entspr. 0.655 % MgO im Stiel- und Stengelpulver. Bei der weiteren Untersuchung stellte es sich dann heraus, daß wir es mit freien Saponinen und mit ihren Magnesiumsalzen zu tun hatten.

##### 1. Orientierende Untersuchung des Blattpulvers.

Petroläther-Auszug: Nach dem Verdampfen des Solvens hinterblieben 3.75 % Rückstand. Neben einer Spur Alkaloid und viel Chlorophyll wurde in diesem ein Pflanzenwachs nachgewiesen, dessen Alkohol ein bei 70° schmelzendes Acetat gab und mithin als Myricylalkohol anzusprechen ist.

Äther-Auszug: Das bereits mit Petroläther extrahierte Blattpulver wurde nunmehr mit Äther ausgezogen. Nach dem Verdampfen

---

<sup>1)</sup> Recueil d. Trav. botan. néerland. 1922.

des Äthers hinterblieben 2 % eines Rückstandes, in welchem viel Chlorophyll, eine Spur Alkaloid und sehr geringe Mengen Gerbstoff nachgewiesen wurden.

**Absol.-Alkohol-Auszug:** Beim Verdampfen des Alkohol-Auszuges aus dem wie oben vorbehandelten Blattpulver blieben 2 % eines Rückstandes zurück, in welchem Chlorophyll, eine Spur Alkaloid und wenig Saponin aufgefunden wurden.

**50-proz.-Alkohol-Auszug:** Beim Verdampfen des Alkohol-Auszuges aus dem in der angegebenen Weise bereits extrahierten Blattpulver ergaben sich etwa 30 % eines braunen, zähen Rückstandes, in welchem viel Saponin nachgewiesen werden konnte.

## 2. Gewinnung der Aralia-Saponine.

2 kg des getrockneten Blatt- und Stengelpulvers wurden mit 95-proz. Methylalkohol extrahiert, bis fast nichts mehr in Lösung ging. Nach Konzentrieren des Alkohol-Auszuges wurden die Saponine mit Äther ausgefällt. Es wurden so etwa 90 g Roh-Saponin erhalten. Die wäßrige Lösung dieses Saponins wurde dann in einer tierischen Membran so lange gegen viel reines, oftmals erneuertes Wasser dialysiert, bis alle krystallinischen Verunreinigungen entfernt waren. Die Saponin-Lösung wurde mit MgO zur Trockne verdampft und das trockne Pulver dreimal während  $\frac{3}{4}$  Stdn. mit erneuten Mengen Methylalkohol ausgekocht. Eine vierte Auskochung lieferte dann nur noch eine geringe Menge Saponin. Die filtrierte Lösung wurde konzentriert und das Saponin durch Äther ausgefällt. So wurden 10 g Saponin erhalten.

Wurde die mit Methylalkohol bereits ausgezogene MgO-Masse nunmehr mit 50-proz. Äthylalkohol ausgekocht, so wurden nochmals 10 g Saponin erhalten; merkwürdigerweise war von diesen 10 g Saponin der größte Teil wieder in Methylalkohol löslich. In der wie oben extrahierten MgO-Masse konnten jetzt nur noch Spuren Saponin nachgewiesen werden. Es wurde also bei der Methylalkohol-Extraktion ca. 1 % vom Gewicht der Blätter an Saponin erhalten.

Wurde nun das bereits mit Methylalkohol extrahierte Blattpulver noch mit 50-proz. Äthylalkohol ausgezogen, so wurden nach dem Einengen bis zur Sirupdicke und Mischen mit Methylalkohol mittels eines starken Überschusses an Äther 50 g Roh-Saponin gefällt. Wie unten ausführlicher auseinandergesetzt ist, wurden hieraus ca. 11.5 g Rein-Saponin gewonnen, also etwa 0.6 % vom Gewicht der Blätter.

Das Blatt- und Stengelpulver lieferte mithin im ganzen etwa 1.6 % Saponin.

Bei einem zweiten Versuch mit 355 g über Kalk ausgetrocknetem Blatt- und Stengelpulver, bei welchem der 95-proz. Holzgeist durch 99-proz. Methylalkohol ersetzt wurde, ergaben sich — wohl infolge des verminderten Wassergehaltes im Extraktionsmittel — etwas andere, jedoch im wesentlichen gleiche Verhältnisse, wie bei obigem Versuch.

Als vorläufiges Resultat stellte sich demnach heraus, daß in dem von mir verwendeten Material jedenfalls drei Saponingruppen vorhanden sind, und zwar:

1. Mit Methylalkohol aus dem Blattpulver ausziehbare Saponine, welche bestehen aus:
  - a) dem MgO-Gemisch mittels Methylalkohols entziehbaren Anteilen (Saponin A<sub>1</sub>).
  - b) dem MgO-Gemisch nicht mittels Methylalkohols, jedoch mittels 50-proz. Äthylalkohols entziehbaren Stoffen (Saponin A<sub>2</sub>).
2. Mit 50-proz. Äthylalkohol aus dem Blattpulver ausziehbar, nachdem die Saponine von 1. entfernt sind. Es ist das Mg-Salz des ersteren Saponins (Saponin B).

Diese drei Saponine gehören zu derjenigen Gruppe, welche nicht von normalem Bleiacetat, wohl aber von Bleiessig ausgefällt wird, wie dies Boorsma (l. c.) bereits für das aus der Aralia-Rinde stammende Saponin angegeben hat.

Weiterhin ist aus Voranstehendem zu entnehmen, daß der Boorsmaschen Methylalkohol-Methode stets eine Extraktion mit 50-proz. Äthylalkohol folgen muß, damit auch die Saponinsalze berücksichtigt werden können und gleichzeitig eine teilweise Trennung herbeigeführt wird.

### 3. Chemische und pharmakologische Untersuchung des mittels Methylalkohols erhaltenen Saponins.

Eine gewisse Menge Blatt- und Stengelpulver wurde mit Methylalkohol ausgezogen, der Alkohol konzentriert und das Saponin mittels Äthers gefällt; dann wurde wieder in Methylalkohol gelöst, von neuem mit Äther ausgefällt und dies einige Male wiederholt. Das Austrocknen des Saponins mit MgO wurde jedoch unterlassen. Das so erhaltene Saponin gab bei der Verbrennung nur 0.49 % Asche, in welcher als Kationen Mg und Ca (etwa in gleichen Mengen) nachgewiesen wurden. Diese geringe Menge Mg und Ca dürfte von der Vermischung mit etwas Mg- und Ca-Saponinen herkommen. Die Trennung von Saponinen mit Hilfe von Lösungsmitteln ist ja nie eine

vollkommene, weil die Saponine einander in ihrer Löslichkeit beeinflussen. Der Gehalt von 0.49 % MgO + CaO ist gegenüber den 3.4 % MgO des mittels 50-proz. Äthylalkohols erhaltenen Mg-Saponins (siehe später) belanglos. Wir haben es hier hauptsächlich mit freien Saponinen zu tun.

Die Saponine A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> aus dem schon früher aus der MgO-Masse erhaltenen Methylalkohol-Saponin sind beide giftig für Fische und zeigen hämolytische Wirkung, wie aus folgender Übersicht erkennbar, und zwar Saponin A<sub>2</sub> stärker als Saponin A<sub>1</sub>:

	Lösung in Wasser 1:1000	Lösung in physiol. NaCl-Lösung 1:1000 (10 mg: 10 ccm 0.1-proz. Blut-Suspension)
Saponin A <sub>1</sub>	ein Weißfischchen dreht sich nach 40 Min. um seine Längsachse und ist nach 55 Min. tot	in 21 Min. klare Lösung
Saponin A <sub>2</sub>	ein Weißfischchen ist in 35 Min. tot	in 13 Min. klare Lösung

Für die nunmehr folgende vorläufige chemische Untersuchung wurden die Saponine A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> miteinander vereinigt. Das Gemisch zeigte die für Saponine charakteristische violette Schwefelsäure-Reaktion.

#### a) Hydrolyse des Gemisches der Saponine A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub>.

13 g des Saponin-Gemisches wurden mit 5-proz. Schwefelsäure gekocht. Nach 6 Stdn. war das erhaltene Sapogenin noch nicht zuckerfrei. Es wurde deshalb nochmals mehrere Stunden mit 5-proz. Schwefelsäure im Sieden erhalten. Jetzt war das Sapogenin zuckerfrei, denn bei weiterem Kochen mit 5-proz. Schwefelsäure in 50-proz. Alkohol wurde kein Zucker mehr abgespalten. So wurden 29.5 % Sapogenin, auf wasserfreies Saponin berechnet, erhalten. Diese Menge ist etwas zu niedrig, weil das Sapogenin in Wasser nicht völlig unlöslich ist.

#### b) Das Aralia-Sapogenin.

##### α) Abtrennung eines chemisch reinen Sapogenins.

Das lichtbraune Sapogenin wurde in absol. Alkohol mittels Tierkohle größtenteils entfärbt. Das Filtrat wurde konzentriert. Nach einigem Stehen krystallisierten dann lange, verfilzte, farblose Nadelchen aus, welche im Rothschen Apparat bei 310° schmolzen. Eine zweite Krystallisation schmolz ebenfalls bei 310°. Die verdampfte Mutterlauge ließ nur ein wenig amorphe Substanz zurück. Nach

wiederholtem Umkrystallisieren aus absol. Alkohol blieb der Schmp. 310—311°.

Aus dem Saponin der zweiten Blätter-Sendung (siehe dort) wurde ein krystallinisches, chemisch reines Sapogenin erhalten mit einem Schmp. 275°, aus welchem sich eine kleine Fraktion vom Schmp. 301° gewinnen ließ. Obschon mir damals der Krystallalkohol-Gehalt des aus Alkohol umkrystallisierten Araligenins noch nicht bekannt war, ist es sehr wahrscheinlich, daß der Unterschied im Schmp. (310° bzw. 275° und 301°) nur von einem verschiedenen Krystallalkohol- und Krystallwasser-Gehalt herrührt, also in Wirklichkeit identische Araligenine erhalten wurden, zumal auch die spez. Drehung der getrockneten Substanzen dieselbe war, nämlich  $\alpha_D^{17}$  des Araligenins vom Schmp. 310—311° in Pyridin = +71.37° ( $c = 1.415$ ,  $\alpha = 1.01^\circ$ ,  $l = 1$  dm) und  $\alpha_D^{16}$  des Araligenins vom Schmp. 275° in einem Gemisch aus 4 ccm über Kali destilliertem Pyridin und 6 ccm absol. Alkohol = +71.07° ( $c = 2.42$ ,  $\alpha = 1.72^\circ$ ,  $l = 1$  dm). Daß der Unterschied im Schmp. 275° und 301° tatsächlich auch nur durch verschiedenen Krystallwasser- und Krystallalkohol-Gehalt verursacht wird, ist auch daraus ersichtlich, daß beide Substanzen nach dem Trocknen bei 150° dieselbe prozentuale Zusammensetzung besitzen, nämlich im Mittel zweier Analysen 77.3 % C, 10.5 % H bzw. 77.4 % C, 10.55 % H.

Bezüglich der weiteren Untersuchung des Araligenins und seiner Derivate vergl. den zweiten Teil dieser Abhandlung unter B.

### β) Die Hydrolysen-Saccharide.

Die Hydrolysen-Flüssigkeit wurde mit überschüssigem Bariumcarbonat zur Trockne verdampft. Die Saccharide wurden mit 90-proz. Alkohol ausgekocht, die Lösungen mit Tierkohle entfärbt und die Filtrate zum Sirup eingedampft.

Bezüglich der genauen, systematischen Untersuchung der Saponin-Saccharide muß auf den zweiten Teil (B) dieser Abhandlung verwiesen werden; hier sei nur erwähnt, daß bei der vorläufigen Untersuchung Pentosen, Methyl-pentosen, mit Preßhefe vergärbare Hexosen, *d*-Galaktose (als  $\alpha$ -Methyl-phenyl-hydrason und als Phenyl-osazon nachgewiesen) aufgefunden worden sind.

### 4. Chemische und pharmakologische Untersuchung des mittels 50-proz. Äthylalkohols aus dem mit Methylalkohol ausgezogenen Blattpulver erhaltenen Saponins B.

#### Mg- und Ca-Saponine.

Das Saponin aus einer Quantität Blattpulver, die zuvor mit Methylalkohol extrahiert worden war, wurde in Wasser verrührt, mit

MgO zur Trockne verdampft und dann dieser Masse durch Auskochen mit 50-proz. Alkohol wieder entzogen. Diese Lösung wurde von neuem eingedampft. Das so gewonnene Saponin erwies sich als giftig, und zwar war es etwa 3-mal so giftig wie das mittels Methylalkohols erhaltene:

Ein Weißfischchen wurde in eine Lösung von 1 g des Saponins in 1 l Wasser gebracht; nach 15 Min. schwamm es auf dem Rücken, nach  $\frac{1}{2}$  Stde. war es tot.

10 cem Blut (1:100 in physiol. Kochsalz-Lösung) wurden nach Zugabe von 10 mg des Saponins (also in Lösung 1:1000) in 6 Min. klar. Eine Lösung 1:10000, in derselben Weise behandelt, hatte sich in 5 Stdn. geklärt.

Jetzt wurden die 50 g Roh-Saponin (die also nicht mit MgO behandelt waren) aus der ganzen Menge des zuvor mit Methylalkohol ausgezogenen Blattpulvers in Untersuchung genommen. Die Toxizität war etwas geringer, als die des mit MgO behandelten Materials. Der Aschengehalt betrug 12.7 %; die Asche bestand hauptsächlich aus Mg, neben wenig Ca, sowie Spuren von Eisen und Natrium.

#### α) Dialyse des Roh-Saponins.

Die zu den Versuchen benutzten 5 g wurden in Wasser gelöst und in einer tierischen Membran gegen viel Wasser, das während 10 Tagen jeden Tag erneuert wurde, dialysiert. Die Exarysate wurden einzeln verdampft und deren Rückstände gewogen. Diese betrugen: 1.009, 0.831, 0.636, 0.460, 0.321, 0.144, 0.072, 0.043, 0.015 und 0.015 g.

Von den 5 g Saponin waren also 77 % diffundiert, 23 % in der Membran zurückgeblieben. Die diffundierte Substanz hinterließ bei der Verbrennung 15.6 % Asche, welche als Kation hauptsächlich Mg enthält. Die nicht-diffundierte Substanz (Saponin) hinterließ 3.4 % Asche, die fast ganz aus MgO, neben wenig CaO, bestand.

Später sind dann auch die übriggebliebenen etwa 40 g Roh-Saponin in derselben Weise dialysiert worden, jedoch wurde das Wasser hierbei nicht 10-, sondern 14-mal erneuert; auch bei dieser Arbeitsweise stieß ich auf einen bestimmten Magnesiumgehalt, der nicht zu entfernen war.

Das Saponin liegt mithin hier als eine äußerst schwer dialysierbare Magnesiumverbindung vor, welche für Fische sehr giftig ist und starke hämolytische Wirkung besitzt, wie folgende Versuche zeigen:

Ein Weißfischchen wurde in eine Lösung von 350 mg des ausdialysierten Mg-Saponins in 1 l Wasser (also 1:3000) gebracht. Nach 50 Min. fing es an, in der Längsrichtung zu schwanken, und atmete, auf dem Rücken liegend,

nur noch schwach. Nach 80 Min. war es tot; für eine Lösung 1:1000 würden dies etwa 25 Min. sein.

Die 77 % der aus dem Roh-Saponin herausdiffundierten Substanz enthielten praktisch kein Saponin, denn sie gaben bei der Hydrolyse mit 5-proz. Schwefelsäure nur Spuren Sapogenin:

Ein Weißfläschchen von etwa 88 g Gewicht, in die Lösung von 1.156 g Subst. (= 1 g aschefrei) in 1 l Wasser gebracht, war nach 3.5 Stdn. noch vollkommen normal. Wurde eine Blut-Suspension 1:100 in physiologischer Kochsalz-Lösung mit dieser Substanz 1:1000 gemischt, so war nach 6 $\frac{3}{4}$  Stdn. die Suspension noch fast gar nicht geklärt.

Das Magnesium-Saponin ist in Wasser löslich; durch verd. Schwefelsäure wird aus ihm das freie Saponin abgeschieden, welches in Lauge löslich ist, also Säure-Charakter besitzt. Das abgeschiedene freie Saponin ist aber nicht unlöslich in Wasser, denn das Filtrat enthält ebenfalls Saponin. Der Niederschlag und das Filtrat liefern beide dasselbe Sapogenin.

Das Mg-Saponin wurde jetzt in Wasser mit MgO eingetrocknet und dieser Masse wieder mit 50-proz. Alkohol entzogen. Dieses Saponin wurde, ebenso wie das freie Saponin, nicht von normalem, wohl aber von basischem Bleiacetat gefällt; es gab ebenfalls die violette Schwefelsäure-Reaktion.

### β) Hydrolyse des Mg-Saponins.

Es wurde hydrolysiert wie bei dem mittels Methylalkohols erhaltenen Saponin. Auch hier wurden bei der vorläufigen Untersuchung dieselben Kohlenhydrate nachgewiesen: Pentosen, Methyl-pentosen, mit Preßhefe vergärbare Hexosen und *d*-Galaktose. Das Sapogenin wurde wie das Sapogenin aus dem freien Saponin gereinigt und auch hier dasselbe reine, krystallinische Sapogenin vom Schmp. 310—311° erhalten; es sublimierte ebenfalls, gab die typische violette Schwefelsäure-Reaktion, lieferte Terpen-Kohlenwasserstoffe bei der Zinkstaub-Destillation im Wasserstoff-Strome und besaß auch den schon hervorgehobenen Säure-Charakter. Bezüglich der systematischen Untersuchung der Kohlenhydrate und des Araligenins vergl. unter B.

Wir kommen also hiernach zu dem sicheren Schluß, daß in den Blättern und Stengeln von *Aralia montana* freie Saponine neben ihren Mg-Salzen vorhanden sind.

### B. Chemische Untersuchung der die zweite Materialsendung bildenden 2.65 kg Blätter und Stengel.

Auch dieses Blatt- und Stengelpulver fiel durch hohen Magnesiumgehalt auf. Der Calciumgehalt war hier aber bedeutender als bei

der ersten Sendung, so daß in diesem Fall auch Ca-Saponine eine Rolle zu spielen scheinen.

Der Wassergehalt der Blätter betrug 9.06 %, der Aschengehalt 9.88 %. Die Asche war infolge der Anwesenheit von Mangan grün gefärbt. Eine MgO-Bestimmung in der Asche ergab 7.19 %, entspr. 0.71 % der Blätter, also ungefähr ebenso viel wie bei der ersten Materialsendung.

### 1. Gewinnung der Saponine.

Weil mir zurzeit Methylalkohol nicht in genügender Menge zur Verfügung stand, wurde ein anderer Weg eingeschlagen:

2.4 kg des Blatt- und Stengelpulvers wurden mit 50-proz. Äthylalkohol ausgezogen. Der Alkohol wurde abdestilliert, die Flüssigkeit nach dem Filtrieren konzentriert und gegen 30 l Wasser dialysiert. Jeden Tag wurde das Wasser erneuert und dies 23-mal wiederholt. Alles Dialysierbare war dann entfernt, von dem Saponin, sowie von seiner Mg- und Ca-Verbindung jedoch nur wenig verloren gegangen.

Ein Nachteil dieser Gewinnungsmethode, welchen die unter A beschriebene (zuerst Ausziehen mit Methylalkohol, durch welchen sämtliches Chlorophyll + freies Saponin entfernt wird, dann Ausziehen mit 50-proz. Äthylalkohol) nicht besitzt, ist der, daß hier alle Saponine zu gleicher Zeit in der Lösung vorhanden sind und infolge ihrer Eigenschaften sonst unlösliche Substanzen, wie Chlorophyll, in kolloidaler Lösung halten.

Die braungrüne Saponin-Lösung, welche praktisch nicht filtrierbar ist, wurde zur Trockne verdampft; sie hinterließ 148 g eines dunkel grünbraunen Roh-Saponins. Dieses Saponin wurde einige Male mit 99-proz. Methylalkohol ausgekocht, wodurch Chlorophyll, das freie Saponin und ein Teil des im übrigen in Methylalkohol unlöslichen Mg-Salzes in Lösung gingen. Nach dem Konzentrieren der Filtrate wurde das Saponin mit Äther ausgefällt. Dieses Saponin, das ich als Saponin A bezeichnen will, war licht grau-grün gefärbt; es wog 54.3 g = etwa  $2\frac{1}{4}$  % des Blattpulvers. Was sich in dem Methylalkohol nicht gelöst hatte, war das Mg- und Ca-Salz; es wog 62.2 g = 2.6 % des Blattpulvers. Dies sei der Kürze halber Saponin B genannt.

Aus der Bestimmung des Mg-Gehaltes der beiden Saponine A und B war ersichtlich, daß die Trennung des freien Saponins von seinem Mg-Salz hier viel weniger gut gelungen war als bei der früheren Darstellungsweise. Aus dem Saponin A konnte durch Wiederholung der Methylalkohol-Behandlung ein Teil des Mg-Salzes als unlöslich entfernt werden. Das im Methylalkohol gelöste Saponin A wurde mittels Tierkohle entfärbt und dann durch Äther ausgefällt.

Nachdem es einen Tag der Luft ausgesetzt worden war, stellte es ein lichtgelbes Saponin dar, welches 15.2 % Wasser enthielt und bei der Verbrennung 2.6 % Asche zurückließ; diese Asche bestand zu 49 % aus  $\text{MgO} = 1.27\%$  des Saponins.

Das Saponin B ( $\text{Mg}$ - und  $\text{Ca}$ -Salz) wies, nachdem es einen Tag an der Luft gestanden hatte, einen Wassergehalt von 8 % und einen Aschengehalt von 6.2 % auf. Die Asche bestand zu 20 % aus  $\text{MgO} = 1.26\%$  des Saponins; sie enthielt ziemlich viel  $\text{Ca}$ -Ion (bei dem  $\text{Mg}$ -Saponin der ersten Partie Blätter wurden 3.4 % Asche erhalten, welche nur wenig  $\text{Ca}$  aufwies und fast ganz aus  $\text{MgO}$  bestand). Der Aschengehalt (6.2 %) liegt also um 3.6 % höher als der des Saponins A; da der  $\text{MgO}$ -Gehalt von beiden gleich ist, wird die Differenz durch  $\text{Ca}$  verursacht, das im Saponin B vorkommt, in Saponin A jedoch fehlt. Insoweit wurde also eine Trennung herbeigeführt; hinsichtlich des  $\text{Mg}$ -Salzes jedoch ist sie hier weniger gut gelungen als bei der Darstellungsmethode aus der ersten Partie Blätter.

Mit diesen Saponinen A und B wurde die vorläufige Untersuchung durchgeführt; bei der Hydrolyse stellte sich heraus, daß hierbei dieselben Monosaccharide und die gleiche Säure abgespalten wurden, und daß beide identische Sapogenine ergaben. Die Saponine A und B, welche beide sehr wahrscheinlich Gemische von amorphen Saponinen sind, wurden für sich nicht analysiert und auch nicht mit Formeln belegt, weil diese doch ohne praktischen Wert sein würden.

## 2. Vorläufige Untersuchung des Saponins A (Freie Saponine mit kleinen Mengen der $\text{Mg}$ -Salze).

Die vorläufige Untersuchung wurde auch in diesem Fall genau nach dem von mir ausgearbeiteten Analysengang<sup>1)</sup> ausgeführt.

a) Wassergehalt: Bei 105° bestimmt, war der Wassergehalt 4.8 %.

b) Verbrennungsrückstand: Bei der Verbrennung blieben 1.8 % einer weißen Asche zurück, in welcher nur  $\text{Mg}$ -Ion nachgewiesen wurde.

c) Qualitative Pentosen- und Methyl-pentosen-Reaktionen:

1. Bialsche Probe: Mit 100 mg Saponin + 2.5 ccm Wasser + 5 ccm Reagens. Das Amylenhydrat war braungrün gefärbt. Spektroskopisch zeigte sich eine Bande bei 5.5—6 (auf  $\text{Li}_\alpha$ ), bei geeigneter Verdünnung mit Amylenhydrat schwach eine Bande auf 6.5 (bei  $\text{Sr}_\alpha$ ). Also ein Hinweis auf Pentosen + Methyl-pentosen.

2. Reaktion von Wheeler und Tollens: 100 mg Saponin wurden mit 5 ccm 5-proz.  $\text{HCl}$  hydrolysiert usw. und dann im Wasserbade mit glei-

<sup>1)</sup> A. W. van der Haar, Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der reinen und aus Glucosiden usw. erhaltenen Monosaccharide und Aldehydsäuren. (Gobr. Borntraeger, Berlin 1920.)

chen Teilen 38-proz. HCl und ein wenig Phloroglucin erhitzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, ausgewaschen und in Alkohol gelöst. Bei geeigneter Verdünnung zeigte die violettrote Lösung im Spektroskop eine Bande zwischen 7 und 8, also zwischen der Na- und der TI-Linie. Mithin ein Hinweis auf Pentosen oder wie Pentosen reagierende Substanzen bezw. auf beide.

3. Resorcin-Reaktion nach Baeyer-Rosenthaler: 100 mg Saponin wurden nach S. 41 der »Anleitung« mit 30 ccm 12½-proz. HCl destilliert. Die verschiedenen 5-ccm-Fractionen und die letzten 10 ccm wurden mit gleichen Volumteilen 25-proz. HCl und etwas Resorcin erhitzt. Es traten grüne bis violettblaue Färbungen auf, bald auch geringe Trübungen. Diese wurden alle auf einem Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen, in Eisessig gelöst und diese Lösung nach geeigneter Verdünnung spektroskopisch untersucht. Es waren keine Banden zu sehen. 200 mg Saponin, in derselben Weise wie oben behandelt, zeigten eine Bande bei 6 stark, eine Bande bei 7 schwach. Also ebenfalls ein Hinweis auf Pentosen oder wie diese reagierende Substanzen bezw. auf beide.

4. Schiffsche Reaktion: Einige Tropfen der Destillate von 3. färbten sich mit Anilin-Eisessig schön rot. Im Spektroskop war eine Bande bei 10—11 (auf der  $Sr_3$ -Linie bei 11) zu erkennen. Also wiederum ein Hinweis auf Pentosen oder wie diese reagierende Substanzen bezw. auf beide.

5. A. Neumannsche Reaktion: 100 mg Saponin wurden mit 5-proz. Schwefelsäure hydrolysiert. Das Filtrat wurde mit einem Überschuß an  $BaCO_3$  zur Trockne verdampft, diese Masse mit Alkohol ausgekocht und der Alkohol im Filtrat vertrieben. Der Verdampfungsrückstand wurde mit 10 Tropfen Wasser, 5 ccm 99-proz. Eisessig und 5 Tropfen 5-proz. alkoholischer Orcin-Lösung zum Kochen erhitzt; dann wurden 10 Tropfen Schwefelsäure hinzugegeben. Die Reaktion war nur undeutlich.

6. Rosenthalersche Reaktion: 100 mg Saponin wurden nach der Pentosen-Bestimmung (S. 41 der »Anleitung«) mit 30 ccm 12-proz. HCl destilliert; hierbei wurden 7 Destillate von 10 ccm und eine letzte Fraktion von 15 ccm erhalten. Als nach den dortigen Angaben weiter verfahren wurde, war bei den letzten Destillaten eine schwache Bande auf 7.5—8 zu sehen, aber keine Methyl-pentosen-Bande auf D (7—7.5).

7. 100 mg Saponin wurden wie bei 6. destilliert. Die Destillate wurden mit gleichen Volumteilen 38-proz. HCl erhitzt; sie blieben farblos.

Aus 1—4 folgt die Anwesenheit von Pentosen oder wie diese reagierenden Substanzen, und aus 1. das Vorhandensein von Methyl-pentosen. Aus 5—7 würde die Abwesenheit von Methyl-pentosen zu folgern sein; wenn jedoch große Mengen von Pentosen neben sehr wenig Methyl-pentosen vorliegen, so werden die sonst empfindlichen Methyl-pentosen-Reaktionen erheblich gestört. Aus der folgenden quantitativen Bestimmung folgt ebenso wie aus 1. die Anwesenheit von geringen Mengen Methyl-pentosen.

d) Quantitative Bestimmung des Furfurol- und des Methyl-furfurol-Phloroglucids: Diese geschah mit 0.75 g Saponin nach der

Pentosan-Bestimmung auf S. 63 der »Anleitung«. Es wurden insgesamt 97 mg Phloroglucid erhalten.

e) Trennung der beiden Phloroglucide: Nach der Behandlung mit absol. Alkohol nach Ellett (S. 68 der »Anleitung«) blieben 89 mg Furfur-Phloroglucid ungelöst zurück. Wenn wir 2 mg für das in Lösung gegangene Furfur-Phloroglucid in Rechnung bringen, so folgt, daß vorhanden waren (aus  $\frac{3}{4}$  g Saponin): 91 mg Furfur- und 6 mg Methyl-furfur-Phloroglucid (siehe weiter unter »Berechnung der Mengen abgespaltener Pentosen und Methyl-pentosen«).

f) Hydrolyse des Saponins: 1 g Saponin wurde mit 25 ccm 3-proz. Schwefelsäure während 3 Stdn. rückfließend gekocht. Nach dem Abkühlen wurde das Sapogenin abfiltriert und ausgewaschen. Es wurde dann, wie angegeben, hintereinander während 2, 2, 3, 2, 4.5, 4 und 3 Stdn. weiter behandelt; hierbei stellte sich aber heraus, daß das Saponin von wäßriger Schwefelsäure nicht völlig gespalten wird. Das erhaltene Sapogenin wurde deshalb noch  $2 \times 3$  Stdn. mit 5-proz. Schwefelsäure in 45-proz. Alkohol gekocht, die Spaltung war jedoch auch jetzt noch keine vollkommene. Erst durch 3-stündiges Kochen des Sapogenins mit 5-proz. HCl in 45-proz. Alkohol wurden die letzten Spuren Saccharid abgespalten.

Das Aralia-Saponin gehört also zu den sehr schwer spaltbaren Saponinen.

Das Saponin aus der ersten Partie Blätter war, wie unter A mitgeteilt, nicht so schwer spaltbar. Ob es einen geringeren Gehalt an Galakturonsäure als das Saponin aus der zweiten Sendung oder gar keine Galakturonsäure enthält, ist mir nicht bekannt geworden, weil ich erst bei dem Saponin aus dem später erhaltenen Material auf diese Säure, sowie auf die systematische Methode aufmerksam wurde, durch welche sie ans Licht kommen mußte. Wahrscheinlich handelt es sich bei den Saponin-Sacchariden um je nach der Tages- und Jahreszeit wechselnde Verhältnisse, unter welchen eine Verschiebung bzw. ein Austausch zwischen dem Galaktose- und Galakturonsäure-Gehalt stattfindet. Im allgemeinen sind ja die Saponine nur transitorische Substanzen, welche je nach der Tages- und Jahreszeit hinsichtlich ihrer Menge, Zusammensetzung und Giftigkeit schwanken können<sup>1)</sup>. Auch aus den Blättern von *Medicago sativa* z. B. erhielt ich das eine Mal in guter Ausbeute ein nur bräunlichgelbes Saponin, das andere Mal bei einer neuen Ernte vom gleichen Stück Land viel weniger eines dunkelbraunen Saponins.

<sup>1)</sup> Über einen ähnlichen Fall beim *Polyscias*-Saponin (ebenfalls einer ostindischen Araliacee) vergl. A. W. van der Haar, Dissertat., Bern 1913, und Bio. Z. 76, 350—358 [1916].

g) Quantitative Bestimmung der Hydrolysen-Säuren: In *Aralia-Saponin* ist von mir<sup>1)</sup> mittels der Naphthoresorcin-Reaktion nach Tollens-Neuberg und Saneyoshi die Glucuronsäure-Gruppe bereits nachgewiesen worden. Die Säure wurde jetzt in 1 g Saponin nach der Lefèvreschen Methode (S. 71 der »Anleitung«) bestimmt. Es wurden 6.5 mg CO<sub>2</sub> erhalten. Wenn wir 2 mg CO<sub>2</sub> des Leer-Versuches in Abzug bringen, so bleiben 4.5 mg CO<sub>2</sub>, welche  $4 \times 4.5 = 18$  mg Glucuron oder Galakturon entsprechen, also 1.8 % des Saponins.

h) Berechnung des Pentosen- und Methyl-pentosen-Gehalts: Bei der Pentosan-Bestimmung (siehe weiter oben) wurden aus  $\frac{3}{4}$  g Saponin 91 mg Furfurol-Phloroglucid erhalten, also aus 1 g Saponin 121.3 mg. Die Bestimmung der Aldehydsäure hatte aus 1 g Saponin 10 mg Glucuron oder Galakturon ergeben, welche 6 mg Furfurol-Phloroglucid entsprechen. Die Pentosen haben also 115.3 mg Furfurol-Phloroglucid geliefert, entspr. 133 mg Pentose (als Arabinose berechnet) = **13,3 %**. Aus  $\frac{3}{4}$  g Saponin waren 6 mg Methyl-furfurol-Phloroglucid erhalten worden, also aus 1 g Saponin 8 mg, entspr. **2,1 %** Methyl-pentose (als Rhamnose berechnet).

i) Quantitative Bestimmung der Hexosen: 1 g Saponin wurde völlig hydrolysiert und dann wie im quantitativen Teil des Kapitels IV, S. 106 meiner »Anleitung« weiter verarbeitet. Schließlich wurde alles mit sterilem Wasser zu 10 ccm aufgefüllt:

α) Mit  $\frac{1}{2}$  ccm wurden im Lohnsteinschen Apparat die Hexosen, außer Galaktose, bestimmt:  $t = 15^\circ$ , Bar. = 762 mm,  $p_{20} = 1.75$ ,  $p_{35} = 1.48$ ; also  $p = 1.48 + \frac{1.75 - 1.48}{15} (35 - 15) = 1.84$  %. Bei  $0^\circ$  und 760 mm wird  $p = 1.84 \times \frac{762 + 90}{850} = 1.843$  % = 9.2 mg Hexose. Wird 1 mg des Leer-Versuches abgezogen, so bleiben 8.2 mg = 16.4 % Hexose.

Eine zweite Bestimmung gab:  $t = 15^\circ$ , Bar. = 771 mm,  $p_{20} = 1.68$ ,  $p_{35} = 1.42$ ,  $p = 1.42 + \frac{1.68 - 1.42}{15} \times 20 = 1.767$  %. Für  $0^\circ$  und 760 mm wird  $p = 1.767 \times \frac{771 + 90}{850} = 1.79$  % = 8.95 mg. Nach Abzug von 1 mg des Leer-Versuches bleiben 7.95 % = 15.9 %. Also im Mittel **16.15 %** Hexosen (außer Galaktose).

β) Mit 1 ccm wurden alle Hexosen im van-Iterson-Kluyverschen Apparat mittels einer Reinkultur aus Lactose-Hefe des »Laboratorium voor techn. botanie, Delft« bestimmt; hieraus und aus α) wurde dann die Galaktose-

<sup>1)</sup> A. W. van der Haar, Über den Nachweis der *d*-Glucuronsäure und ähnlich sich verhaltender Säuren mittels der Naphthoresorcin-Reaktion, Bio. Z. 88, 205–212 [1918].

Menge gefunden.  $t = 15^\circ$ , Bar. = 770 mm, Ablesung 3 ccm. Für die Berechnung auf  $0^\circ$  und 760 mm werden nach der Kluvyerschen Tabelle 3.9 % in Abzug gebracht. Es bleiben 2.883 ccm übrig. Für die in 1 ccm Flüssigkeit gelöste Kohlensäure wird 1.2 ccm hinzugezählt. Wir erhalten also 4.083 ccm  $\text{CO}_2$ .

In der obigen Bestimmung der Hexosen, außer Galaktose, wurden diese zu 16.15 % festgestellt. Diese entsprechen 3.84 ccm  $\text{CO}_2$  bei  $0^\circ$  und 760 mm. Es bleiben also für die Galaktose 0.243 ccm  $\text{CO}_2$ , welche 1.07 mg Galaktose äquivalent sind, also 1.07 %. Bei einer zweiten Bestimmung wurden, zur Kontrolle der richtigen Wirkung der Lactose-Hefe, 10 mg Galaktose mit in den Apparat gegeben. Sie wurden genau wiedergefunden.

γ) Zur näheren Kontrolle des kleinen Gehalts an Galaktose wurde deren Menge in 5 ccm der Flüssigkeit auch noch nach der Schleimsäure-Methode von Kent-Tollens-Creydt-van der Haar, mit Hilfe der van der Haarschen Tabellen (S. 123 meiner »Anleitung«) bestimmt. Damit Tabelle II benutzt werden konnte, wurden, um zu 1 g Saccharid zu kommen, 783 mg Saccharose mit oxydiert (5 ccm Flüssigkeit enthalten 0.5 g Saponin; diese entsprechen 217 mg Sacchariden, siehe die Bestimmung des Aglucons zu 50 %, die Wasser- + Asche-Bestimmung zu 6.6 %). Um zu 1 g Saccharid zu gelangen, müssen 1000—217 mg Saccharose mit oxydiert werden. Es wurden 2.45 mg Schleimsäure = 10 mg Galaktose = 2 % gefunden.

Diese 2 % nach der Schleimsäure-Methode und die 1.07 % nach der Gärmethode stimmen zwar nicht besonders gut überein, doch wird die Differenz wohl nur durch die kleine Menge der zu bestimmenden Galaktose verursacht sein. Immerhin darf hiernach als sicher gelten, daß ihre Menge gering ist. Später wurde die Galaktose dann noch als *o*-Tolyl-hydraxon nachgewiesen. Die gefundene Menge von 2 % wurde als die richtige angenommen.

k) Quantitative Bestimmung des Sapogenins (Aglucon): Es wurden nach der Hydrolyse usw. 50 % Sapogenin erhalten. Insgesamt wurden demnach gefunden:

Wasser 4.8 %; Asche 1.8 %; Säuren (später nur *d*-Galakturonsäure) 1.8 %; Pentosen (später nur *l*-Arabinose) 13.3 %; Methyl-pentosen 2.1 %; Hexosen (außer *d*-Galaktose, später nur *d*-Glucose) 16.15 %; *d*-Galaktose 2 %, Sapogenin 50 %, also zusammen 91.95 %.

Daß entgegen der Erwartung kein etwas über 100 % liegendes Resultat erhalten wurde, dürfte wohl nur durch die teilweise Zersetzung der Saccharide bei der sehr schwierigen Hydrolyse des Saponins und durch die nicht vollkommene Unlöslichkeit des Sapogenins verursacht sein. Es sind also sehr wahrscheinlich keine Substanzgruppen übersehen worden.

### 3. Vorläufige Untersuchung des Saponins B (Mg- und Ca-Saponine).

Dieses Saponin ist dunkelbraun gefärbt, aber von allen dialysierbaren Verunreinigungen frei; es ist in Wasser, sowie in verd. Alkohol löslich. Die vorläufige Untersuchung wurde wie bei Saponin A durchgeführt.

a) Wasser- und Aschen-Gehalt: 7.2 % bezw. 5.3 %.

b) Qualitative und quantitative Pentosen- (+ Aldehydsäuren-) und Methyl-pentosen-Bestimmung: Nach dem positiven Ausfall einiger Pentosen-Reaktionen wurde die Pentosan-Bestimmung ausgeführt: 1 g Saponin gab 95 mg Furfurol- und 33 mg Methyl-furfurol-Phloroglucid (getrennt durch absol. Alkohol, Berechnung bei der folgenden Bestimmung).

c) Qualitative Bestimmung der Hydrolysen-Säure, Berechnung der Pentosen und Methyl-pentosen: Nach der Lefèvreschen Methode wurden aus 1 g Saponin 18.5 g CO<sub>2</sub> erhalten; nach Abzug von 2 mg CO<sub>2</sub> des Leer-Versuches bleiben 16.5 mg CO<sub>2</sub>, welche 66 mg = 6.6 % Galakturonsäure-lacton = 7.28 % Galakturonsäure (später wurde nur Galakturonsäure gefunden) entsprechen. Nach der vorangehenden Bestimmung wurden aus 1 g Saponin 95 mg Furfurol-Phloroglucid erhalten. Die 66 mg Galakturonsäure entsprechen 22 mg des Phloroglucids (angenommen wird, daß Galakturonsäure sich wie Glucuronsäure verhält). Es bleiben dann für die Pentosen 73 mg Phloroglucid, entspr. 86.4 mg = 8.64 % Arabinose (später wurde nur *l*-Arabinose gefunden).

Die 33 mg Methyl-furfurol-Phloroglucid entsprechen 62.39 mg Rhamnose = 6.24 % (die Art der Methyl-pentose konnte nicht ermittelt werden, sie war jedoch jedenfalls keine Fucose).

d) Quantitative Hexosen-Bestimmung: Mit 1 g Saponin wurde genau wie bei der entsprechenden Bestimmung unter 2. i) verfahren:

a)  $\frac{1}{2}$  ccm im „Lohnstein“:  $t = 15^\circ$ , Bar. = 764 mm,  $p_{20} = 0.63$ ,  $p_{25} = 0.5$ , also  $p = 0.5 + \frac{0.13}{15} \times 20 = 0.673$  %. Bei  $0^\circ$  und 760 mm ist  $p = 0.673 \times \frac{764 + 90}{850} = 0.676$  % = 3.38 mg Glucose. Nach Abzug des  $\frac{1}{2}$  mg des Leer-Versuches bleiben 2.88 mg = 5.76 % des Saponins. Eine zweite Bestimmung ergab 5.44 %, also im Mittel 5.6 % Glucose (später wurde nur Glucose nachgewiesen).

$\beta$ ) Mit 1 ccm im van-Iterson-Kluyverschen Apparate mittels einer Reinkultur von Lactose-Hefe:  $t = 14^\circ$ , Bar. = 763 mm, Ablesung 1.2 ccm. Für  $0^\circ$  und 760 mm werden 4.51 % abgezogen; es bleiben dann 1.146 ccm. Für das in 1 ccm Flüssigkeit gelöste CO<sub>2</sub> wird 1.2 ccm hinzugezählt. Also

im ganzen 2.346 ccm  $\text{CO}_2$ . Vorhanden sind nach »Lohnstein« 5.6 % Glucose, entspr. 1.33 ccm  $\text{CO}_2$ . Es bleiben für die Galaktose 1.01 ccm = 4.44 mg = 4.44 % Galaktose.

Bei einem Versuch mit 10 mg Galaktose, welche absichtlich dem 1 ccm Flüssigkeit hinzugefügt wurden, ließen sich 9.9 mg wieder nachweisen. Die Bedingungen waren also richtig gewählt.

γ) Zur näheren Kontrolle wurde die Menge Galaktose in 5 ccm Flüssigkeit (=  $\frac{1}{2}$  g Saponin) auch noch nach Kent-Tollens-Creydt-van der Haar, wie entsprechend bei Saponin A angegeben, bestimmt. Es wurden 840 mg Saccharose mit oxydiert und 1.5 mg Schleimsäure erhalten, entspr. 8.5 mg Galaktose = 1.7 %.

Die ziemlich starke Abweichung von den 4.44 % der Gärprobe wird wohl auch hier durch die kleine, zu bestimmende Menge der Galaktose verursacht sein. Im Mittel wurden 3 % Galaktose im Saponin angenommen. Die *d*-Galaktose wurde später nachgewiesen (siehe unten).

e) Quantitative Bestimmung der *d*-Galakturonsäure durch Oxydation mit Salpetersäure: 1 g Saponin wurde mit wäßriger und alkoholischer Schwefelsäure völlig hydrolysiert. Nach der Vertreibung des Alkohols und nach der Filtration wurde mit Barytwasser auf Kongopapier neutralisiert. Schließlich wurde auf 30 ccm eingedampft und mit 30 ccm 50-proz.  $\text{HNO}_3$ , nach der Schleimsäure-Methode, wie oben behandelt, wobei 700 mg Saccharose mit oxydiert wurden. Es wurden also aus Galaktose + Galakturonsäure 60.5 mg Schleimsäure erhalten. Die vorhandenen 3 % Galaktose = 30 mg Galaktose haben nach Tabelle II (siehe meine »Anleitung«, S. 126) 15.2 mg Schleimsäure geliefert. Es bleiben also 45.3 mg Schleimsäure aus der Galakturonsäure übrig. Wird nun die Galakturonsäure wie bei Galaktose berechnet, so entsprechen die 45.3 mg Schleimsäure nach der Tabelle II 75 mg Galakturonsäure = 7.5 %. Diese Zahl stimmt gut mit der nach der Lefèvreschen Methode (gef. 7.28 %) bestimmten überein. Bezüglich der weiteren Identifizierung der Galakturonsäure vergl. unter: Die Hydrolysen-Saccharide und -Säuren des Mg-Saponins.

f) Quantitative Bestimmung des Sapogenins (Aglucon). Dieses wurde nach der Hydrolyse durch Wägung zu 31.2 % bestimmt.

Die beim Mg- und Ca-Saponin erhaltenen Resultate lassen sich wie folgt zusammenfassen: Wasser 7.2 %; Asche 5.3 %; *d*-Galakturonsäure 7.39 %; Pentosen (später Arabinose) 8.64 %; Methyl-pentosen 6.24 %; mit Preßhefe vergärbare Hexosen (später nur *d*-Glucose) 5.6 %; *d*-Galaktose 3 %; Sapogenine

31.2 %, zusammen: 74.57 %, also etwa 25 % zu wenig. Zum kleinen Teil wird dies Manko verursacht durch die partielle Zersetzung der Saccharide und der Säuren bei der sehr schwierigen Hydrolyse, ferner durch die nicht völlige Unlöslichkeit der Sapogenine in Wasser. Zum größten Teile aber wird das Defizit durch Verunreinigungen verursacht, wie aus den folgenden Bestimmungen ersichtlich ist. Die Möglichkeit, daß überdies noch flüchtige Substanzen abgespalten worden sind, besteht; doch ist dies nicht sehr wahrscheinlich.

$\frac{1}{2}$  g Saponin wurde mittels Schwefelsäure, wie früher angegeben, völlig hydrolysiert; dann wurde das quantitativ erhaltene Filtrat mit  $\text{BaCO}_3$  eingetrocknet, die Masse mit Alkohol ebenfalls quantitativ ausgekocht (galakturonsaures Barium bleibt hierbei ungelöst). Das wiederum quantitativ aufgesammelte Filtrat wurde eingedunstet und der Rückstand in Wasser zu 50 ccm aufgenommen. 20 ccm wurden nach der Fehling-Lehmann-Schoorlschen Methode titriert. Die Differenz gegenüber dem Leer-Versuch war 12.6 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat. Wir sind nun mit Hilfe der Schoorlschen Tabellen imstande, zu berechnen, wieviel ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat von den quantitativ bestimmten Zuckern verlangt werden: 8.64 % Arabinose aus 0.2 g Saponin = 17.28 mg = 5.5 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat; 6.24 % Methyl-pentose (als Rhamnose angenommen) = 12.48 mg = 3.75 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat; 5.6 % Hexose (*d*-Glucose) = 11.2 mg = 3.56 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat; 3 % Galaktose = 6 mg = 1.73 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat; zusammen = 14.54 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat.

Wenn wir die mannigfaltigen Bestimmungen in Betracht ziehen, können wir sagen, daß die 14.54 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Thiosulfat genügend mit den verlangten 12.6 ccm übereinstimmen, um daraus schließen zu dürfen, daß keine Saccharide übersehen worden sind; im Mg- und Ca-Saponin wären demnach etwa 25 % Verunreinigungen anzunehmen.

#### 4. Die Hydrolysen-Saccharide und -Säuren des Mg-Ca-Saponins.

Das Saponin wurde, wie früher angegeben, völlig hydrolysiert und das saccharid-haltige Filtrat mit überschüssigem  $\text{BaCO}_3$  zur Trockne verdampft. Dieser trocknen Masse wurde durch Kochen mit 90-proz. Alkohol alles Saccharid entzogen; das galakturonsaure Barium wurde schließlich der Carbonatmasse durch Wasser entzogen.

#### Nachweis der *d*-Galakturonsäure.

Die oben erhaltene wäßrige Lösung des Bariumsalzes gab folgende Reaktionen:

a) Naphthoresorcin-Probe nach Tollens-Neuberg-Saneyoshi: Ein Teil der Lösung wurde mit norm. Bleiacetat vermischt. Nach dem Filtrieren wurde die Galakturonsäure mit Bleiessig gefällt und das galakturon-

saure Blei mit Wasser ausgewaschen. Der Niederschlag wurde in 10 ccm 19-proz. HCl gelöst und die Lösung mit 30 mg Naphthoresorcin gekocht. Die Flüssigkeit wurde heiß mit Benzol ausgezogen. Das Benzol war violett gefärbt und zeigte im Spektroskop eine schwache Bande auf D.

b) Die wäßrige Lösung reduzierte Fehlingsche Lösung in der Kälte sehr schnell.

c) Bei der Oxydation mit Salpetersäure wurde Schleimsäure erhalten.

Auch in Verbindung mit den Resultaten der Gärproben dürfen wir die Aldehydsäure mithin wohl als *d*-Galakturonsäure ansprechen.

#### Nachweis der Saccharide.

Der oben erhaltene, saccharid-haltige Alkohol wurde zum Sirup eingedampft. Nach langsamem Mischen mit absol. Alkohol blieb eine körnige Masse zurück, in welcher *d*-Galakturonsäure nachgewiesen werden konnte. Der saccharid-haltige Alkohol wurde mittels Tierkohle größtenteils entfärbt. Beim Verdunsten der filtrierten Lösung wurde ein braungelber Sirup gewonnen, welcher nur Spuren Barium-Ion enthielt.

Da nach der »Voruntersuchung« Pentosen, Methyl-pentosen und Hexosen vorliegen, haben wir es hier mit Fall 7 des Analysenganges in Kap. IX meiner »Anleitung« zu tun. Wir haben also auf die 8 dort genannten Monosaccharide zu fahnden.

Abwesenheit von *d*-Mannose:  $\frac{1}{2}$  g der sirupförmigen Saccharide wurde in 5 ccm Wasser mit einer Lösung aus 0.4 g Phenyl-hydrazin in 1 ccm 25-proz. Essigsäure behandelt. In 24 Stdn. hatte sich kein Hydrazon ausgeschieden. Wurden in einem Teil der Flüssigkeit 10 mg *d*-Mannose gelöst, so krystallisierte bald Mannose-phenylhydrazon aus. Mannose lag also ursprünglich nicht vor.

Der andere Teil der Flüssigkeit wurde im Wasserbade mit 200 mg salzsaurem Phenyl-hydrazin und 300 mg Na-Acetat erhitzt. Das ausgeschiedene Osazon wurde mit Wasser und Aceton gewaschen und einige Male aus 70-proz. Alkohol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt im (Rothschen Apparat) war  $210^{\circ}$ , also der des *d*-Glucosazons.

Abwesenheit von *d*-Fructose, Anwesenheit von *d*-Glucose:

Ketosen-Reaktionen: Die erste Pinoffsche Reaktion mit  $\alpha$ -Naphthol war schwach violett, mit 1 mg Fructose etwas besser.

Seliwanoffsche Reaktion: War nach 15 Min. nicht deutlich, auch mit 2 mg Fructose in der Flüssigkeit nicht.

Seliwanoff-Weehuizensche Reaktion (S. 96 meiner »Anleitung«): Diese war deutlich positiv. Möglicherweise könnten demnach Spuren Fructose vorhanden sein. Das ist aber sehr unwahrscheinlich; denn wenn die Hexosen mittels Preßhefe vergoren und die restierenden Saccharide wieder abgetrennt wurden, so verlief die Reaktion ebenfalls noch positiv. Die sehr empfindliche Reaktion wird also wohl von einer anderen Substanz verursacht

sein, und zwar sehr wahrscheinlich von der Galakturonsäure, welche in geringer Menge den Sacchariden beigemischt war; denn das galakturonsaure Barium gibt die Reaktion ebenfalls, jedoch nur schwach und mit etwas nuancierter Farbe.

Auch nach folgendem Versuch ist es wohl sehr wahrscheinlich, daß keine Fructose vorliegt: Aus 800 mg des Sirups in 5 ccm Wasser wurden mittels 500 mg  $\alpha$ -Methyl-phenyl-hydrazin und Alkohol die Arabinose und Galaktose ausgefällt. Das Hydrazon wurde aus 30-proz. Alkohol umkrystallisiert, wobei sich nur die Galaktose-Verbindung vom Schmp.  $190^{\circ}$  ausschied. Das Filtrat von den zuerst erhaltenen Hydrazonen wurde dann mittels Formaldehyds (Kap. VII meiner »Anleitung«) zersetzt. Die schließlich erhaltenen Saccharide wurden polarimetrisch untersucht, die Drehung aber war rechts.

Es gelang mir nicht, die anwesende Methyl-pentose als Rhamnose mittels des *p*-Bromphenyl-osazons zu identifizieren.

Anwesenheit von *d*-Glucose: 2 g der sirupförmigen Saccharide wurden mit 15 ccm 25-proz.  $\text{HNO}_3$  oxydiert. Nach 24 Stdn. wurde die Schleimsäure abgesogen und durch den Schmp.  $214\text{--}215^{\circ}$  identifiziert. Durch Wiederholen des Eindampfens und Verdünnens wurde dann die Schleimsäure möglichst abgetrennt. Die eingeengte Flüssigkeit wurde mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  neutralisiert und mit Essigsäure wieder angesäuert. In 24 Stdn. bildeten sich nunmehr die typischen Krystalle des sauren zuckersauren Kaliums. Die Menge war jedoch nicht groß genug, um mit Erfolg auf das Silbersalz verarbeitet zu werden. Da es ferner gelang, ein Glucosazon vom Schmp.  $210^{\circ}$  darzustellen, während Mannose und Fructose nicht vorliegen, dürfen wir wohl auf die Anwesenheit von *d*-Glucose schließen.

Abwesenheit von Xylose: 1 g der sirupförmigen Saccharide wurde mit 1 ccm Wasser, 500 mg  $\text{CdCO}_3$  und 8 Tropfen Brom schwach erwärmt (»Anleitung«, S. 58). Es gelang in keiner Weise, die bekannten bootförmigen Krystalle des Doppelsalzes  $(\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_6)_2\text{Cd}$ ,  $\text{CdBr}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$  hervorzurufen.

Anwesenheit von *l*-Arabinose und *d*-Galaktose, Abwesenheit der Fucose: 1 g der Saccharide wurde mit 5 ccm 75-proz. Alkohol und 0.7 g  $\alpha$ -Benzyl-phenyl-hydrazin nach S. 167 meiner »Anleitung« behandelt. Das abgetrennte Hydrazon, zweimal aus 75-proz. Alkohol umkrystallisiert, war die Arabinose-Verbindung mit dem Schmp.  $173^{\circ}$  (Mischprobe: keine Depression). Eine Mischprobe mit der Fucose-Verbindung (Schmp.  $178^{\circ}$ ) schmolz dagegen bei  $167^{\circ}$ . Fucose lag also nicht vor.

Das Filtrat von der Arabinose-Verbindung, nach Kap. VII meiner »Anleitung«, mit 1 ccm Formaldehyd behandelt, lieferte 300 mg Saccharid, welche in 3 ccm Wasser mit 300 mg  $\alpha$ -Methyl-phenyl-hydrazin und Alkohol bis zur klaren Lösung behandelt wurden. Das ausgeschiedene Hydrazon erwies sich als das silberweiße Derivat der *d*-Galaktose; zweimal aus 30-proz. Alkohol umkrystallisiert, schmolz es bei  $190\text{--}191^{\circ}$  (Mischprobe: keine Depression). Das Filtrat von der Galaktose-Verbindung wurde wieder mit Formaldehyd behandelt und der Rest des Aldehyds durch wiederholtes Eindampfen mit absol. Alkohol völlig vertrieben. Die Glucose wurde ver-

goren. Es gelang jedoch nicht, die Methyl-pentose mittels ihres *p*-Bromphenyl-osazons als Rhamnose nachzuweisen.

In 2 g der ursprünglichen Saccharide wurde die Glucose mittels Preßhefe in einigen Stunden bei 35° vergoren. Nach dem Filtrieren, Eindampfen zum Sirup, Reinigen durch starken Alkohol, nochmaligen Filtrieren und Eindampfen wurde  $\frac{1}{2}$  g Sirup erhalten; dieser wurde mit  $\frac{1}{2}$  g Wasser,  $\frac{1}{2}$  g aus Wasser umkrystallisiertem, noch feuchtem *o*-Tolyl-hydrazin und 20 Tln. absol. Alkohol nach S. 206 meiner »Anleitung« behandelt. Nach Abkühlen und Impfen mit einer Spur *d*-Galaktose-*o*-tolylhydrazon wurde in 24 Stdn. ein Hydrazon erhalten, das, aus wenig 96-proz. Alkohol umkrystallisiert, bei 176° schmolz, also die *d*-Galaktose-Verbindung war (Mischprobe: keine Depression).

Das Filtrat, wieder mit Formaldehyd usw. behandelt, gab 0.3 g Saccharide, welche, in wenig 75-proz. Alkohol gelöst und mit 0.3 g  $\alpha$ -Benzylphenyl-hydrazin behandelt, eine kleine Menge der *l*-Arabinose-Verbindung vom Schmp. 173° lieferten. Nach der Formaldehyd-Behandlung des Filtrates usw. gelang es auch hier nicht, die Methyl-pentose als *p*-Bromphenyl-osazon nachzuweisen.

##### 5. Die Hydrolysen-Saccharide und -Säure des Saponins A. (Freies Saponin und ein wenig Mg-Salz.)

Die Hydrolysen-Saccharide wurden in derselben Weise, wie bei dem Saponin B erhalten. Bei der »Voruntersuchung« hatte sich herausgestellt, daß auch hier dieselben Saccharidgruppen vorliegen. Bei der systematischen Untersuchung ergab sich dann mit Sicherheit, daß nicht nur dieselben Saccharide, sondern auch dieselbe Aldehydsäure erhalten worden waren. Es wurde: *l*-Arabinose als  $\alpha$ -Benzylphenyl-hydrazon und als Diphenyl-hydrazon, *d*-Galaktose als *o*-Tolyl-hydrazon, als Schleimsäure und durch die Gärproben, *d*-Glucose als Phenyl-osazon, als saures zuckersaures Kalium und als *p*-Nitrophenyl-hydrazon (siehe unten), *d*-Galakturonsäure durch die Gärproben, die Naphthoresorcin-Reaktion, die schnelle Reduktion der Fehlingschen Lösung und durch die Oxydation zu Schleimsäure nachgewiesen.

Wie beim Saponin B (Mg- und Ca-Salze) lagen Fucose, *d*-Mannose, Xylose und *d*-Fructose auch hier nicht vor. Hinsichtlich des positiven Ausfalles der Seliwanoff-Weehuizenschen Ketosen-Reaktion sei auf den entsprechenden Teil der Untersuchung der Mg-Saponin-saccharide verwiesen, sowie auf das in bezug auf den Fructose-Nachweis bereits Mitgeteilte. Es gelang mir auch hier nicht, die Methyl-pentose sicher zu identifizieren. Nach der Vergärung der *d*-Glucose ist für den Rhamnose-Nachweis in unserem Fall nur eine Reaktion anwendbar, nämlich die Bildung des *p*-Bromphenylsazons. Ich konnte es jedoch nicht genügend rein erhalten, um den Schmelzpunkt mit Erfolg zu bestimmen.

Nach einiger Zeit krystallisierte der Sirup. Die Krystalle wurden abgesogen und mit Alkohol gewaschen. Sie gaben keine Pentosen-Reaktionen und drehten die Polarisationssebene nach rechts. Mit *p*-Nitrophenyl-hydrazin behandelt (S. 182 meiner »Anleitung«), lieferten sie ein Hydrazon, das nach dem Umkrystallisieren aus 95-proz. Alkohol bei 189° schmolz. Es war also die Glucose-Verbindung (Mischprobe: keine Schmp.-Depression).

## 6. Die Sapogenine.

### Darstellung eines chemisch reinen, krystallinischen Sapogenins ( $\alpha$ -Araligenin).

Das Roh-Sapogenin wurde bei der Hydrolyse des Saponins A, wie auch des Saponins B als eine dunkelbraune Substanz erhalten. Die Masse wurde mit absol. Alkohol ausgekocht und der alkoholischen Flüssigkeit norm. alkoholisches Kali zugegeben. Ein schwarzbrauner Niederschlag wurde abfiltriert, das Filtrat mit Äther vermischt, 24 Stdn. beiseite gestellt, eine geringe braune Trübung abfiltriert und das jetzt nur noch schwach gefärbte Filtrat nach dem Ansäuern mit Salzsäure und Zufügen von Wasser konzentriert. Das schwach gefärbte Sapogenin wurde abgesogen, mit Wasser abgewaschen und getrocknet. Es wurde einige Male aus 70-proz. Alkohol und dann aus nicht zuviel absol. Alkohol umkrystallisiert, bis die rein weiße, in Nadeln krystallisierende, von amorphen Substanzen nunmehr völlig befreite Substanz im Rothschen Apparat bei 275° schmolz. Bei noch weiter fortgesetztem Umkrystallisieren aus absol. Alkohol blieb der Schmp. bei 275° konstant. Trotzdem wurden noch die folgenden Krystallisierungsversuche gemacht, um Sicherheit zu erlangen, daß hier eine wirklich einheitliche Substanz vorlag:

a) Wurde das Araligenin (Schmp. 275°) aus absol. Alkohol so umkrystallisiert, daß sich wieder viel (z. B. von 2 g 1.5 g) ausschied, so schmolz die erste Krystallisation bei 274°. Das Filtrat wurde etwas konzentriert; es fielen dann 0.35 g aus mit dem Schmp. 272°. Nach weiterem Konzentrieren ergab sich eine Krystallisation mit dem Schmp. 273°. Das Filtrat wurde eingetrocknet, der Schmp. des geringen Rückstandes war 265°.

b) Wurde das Araligenin mit zur völligen Lösung ungenügenden Mengen absol. Alkohol gekocht, so schmolz das ungelöst Gebliebene bei 275°.

c) Wurde das Araligenin mit so viel absol. Alkohol gekocht, daß beim Abkühlen nur wenig auskrystallisierte, so schmolz diese Substanz bei 295°. Aus dem etwas konzentrierten Filtrat schied sich eine Substanz vom Schmp. 272° ab. Das zur Trockne eingedampfte Filtrat von dieser Krystallisation ergab eine Substanz mit dem Schmp. 265—268°.

d) Als die Fraktion vom Schmp. 295° wieder aus absol. Alkohol umkrystallisiert wurde, lieferte sie wollige Krystalle mit dem Schmp. 300°.

Das Filtrat wurde eingetrocknet und ergab eine Substanz mit dem Schmp. 290°. Durch abermaliges Umkrystallisieren wurde der Schmp. von 300° auf 301° erhöht.

Das Araligenin vom Schmp. 275° wurde zerlegt in 5 % einer Fraktion mit dem Schmp. 301°, 83 % mit dem Schmp. 273° und 12 % mit dem Schmp. 265—268° (durch Eindampfen). Die Hauptfraktion (Schmp. 273°) wurde von neuem aus absol. Alkohol umkrystallisiert, doch so, daß nur wenig auskrystallisierte. Diese Krystallisation schmolz bei 273°, und beim Konzentrieren des Filtrats ergab sich wieder eine Fraktion vom Schmp. 273°; das völlig eingedampfte Filtrat von dieser hinterließ 100 mg Substanz mit dem Schmp. 265°.

Bei der weiteren Untersuchung der 3 Fraktionen stellte sich heraus, daß wir es hier mit nur einer Substanz zu tun haben, und daß die 3 Fraktionen lediglich infolge eines verschiedenen Krystallalkohol- und Krystallwasser-Gehalts etwas verschiedene Schmp. aufweisen. Die bei 150° getrockneten Fraktionen zeigten bei der Elementaranalyse die gleiche Zusammensetzung (s. unten).

Durch Trocknen bei 150° verlor die Fraktion vom Schmp. 301° 6.8 %, die Fraktion vom Schmp. 273° 4.6 % an Gewicht. Da das Material vom Schmp. 275°, welches mit demselben Schmp. auch aus dem Mg-Saponin erhalten wurde, bei 150° getrocknet, dieselbe Zusammensetzung zeigt wie seine bei 150° getrockneten Fraktionen, betrachte ich das Araligenin mit dem Schmp. 275° als einheitliche Substanz.

#### Krystallalkohol- und Krystallwasser-Gehalt des Araligenins.

Das Araligenin verlor durch Trocknen bei 150° 6.79 % an Gewicht. Wurde mit diesem getrockneten Araligenin eine Äthoxyl-Bestimmung nach Zeisel gemacht, so gab der Versuch ein völlig negatives Resultat; wurde aber dieselbe Bestimmung mit der nur lufttrocknen Substanz ausgeführt, so machte sich Äthoxyl bemerkbar.

#### Analysen des Araligenins und seiner Fraktionen:

0.1317 g Araligenin (Schmp. 275°), bei 150° getrocknet: 0.3734 g CO<sub>2</sub>, 0.1245 g H<sub>2</sub>O. — 0.1317 g Araligenin (Schmp. 275°), bei 150° getrocknet: 0.3720 g CO<sub>2</sub>, 0.1272 g H<sub>2</sub>O. — 0.1336 g Araligenin (aus Mg-Saponin), Schmp. 275°, bei 150° getrocknet: 0.3776 g CO<sub>2</sub>, 0.1262 g H<sub>2</sub>O. — 0.1099 g Araligenin (Schmp. 301°), bei 150° getrocknet: 0.3113 g CO<sub>2</sub>, 0.1648 g H<sub>2</sub>O. — 0.0808 g Araligenin (Schmp. 301°), bei 150° getrocknet: 0.2298 g CO<sub>2</sub>, 0.0764 g H<sub>2</sub>O. — 0.1028 g Araligenin (Schmp. 273—274°), bei 150° getrocknet: 0.2932 g CO<sub>2</sub>, 0.0960 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>.

Ber. C 77.6,

H 10.45.

Gef. > 77.3, 77.03, 77.1, 77.25, 77.56, 77.8, > 10.5, 10.72, 10.5, 10.6, 10.5, 10.38.

0.200 g Araligenin (Schmp. 275°) verloren bei 150° 13.58 mg = 6.79 % an Gewicht. — 0.167 g Araligenin (Schmp. 275°), bei 150° getrocknet, gaben nach Zeisel kein AgJ. — 0.2115 g Araligenin (Schmp. 275°) gaben nach Zeisel 0.0415 g AgJ.

$C_{26}H_{42}O_3$ ,  $\frac{3}{4}$  aq.,  $\frac{1}{3}$   $C_2H_5.OH$ . Ber. aq. 3.13,  $C_2H_5.OH$  3.55.  
Gef. » 3.03, » 3.76.

Die einzelnen Fraktionen des Araligenins haben verschiedenen Krystallalkohol-Gehalt.

Nach den obigen Elementaranalysen könnte die Formel des Araligenins auch  $C_{25}H_{40}O_3$  sein, also ein niedrigeres Homologe von  $C_{26}H_{42}O_3$  vorliegen. Die Bestimmung des Mol.-Gew. und des Kaliums in dem Kaliumsalz, ferner die Verbrennungen des Methylesters und seiner Acetylverbindung, sowie die Verbrennung des Terpens, das bei der Zinkstaub-Destillation im  $H_2$ -Strom erhalten wird, brachten jedoch die Entscheidung für die Formel  $C_{26}H_{42}O_3$  des Araligenins<sup>1)</sup>.

Mol.-Gew.-Bestimmung: Diese konnte nur richtig in Phenol im Eykmanschen Depressimeter ausgeführt werden, weil die Löslichkeit in anderen Lösungsmitteln zu gering ist.

Phenol 14.5966 g, Sbst. 0.9637 g (getrocknet), Depression 1.15° aus mehreren Bestimmungen, also  $M = 72 \times \frac{100 \times 0.9637}{14.5966 \times 1.15} = 413$ .

$C_{26}H_{42}O_3$ . Mol.-Gew. Ber. 402. Gef. 413.

Opt. Aktivität des bei 150° getrockneten Araligenins:

$\alpha_D^{16}$  in absol. Alkohol + Pyridin (6 ccm + 4 ccm) = + 71° (t = 16°, c = 2.42,  $\alpha$  aus mehreren Ablesungen im Mittel = 1.72° im 1-dm-Rohr).

Eigenschaften: Die Löslichkeit in Solvenzien wie Äther, Benzol, Toluol, Xylol, Chloroform, Isobutylalkohol, Schwefelkohlenstoff, Tetrachlorkohlenstoff, Äthylacetat, Aceton ist nicht groß. In Petroläther ist das Araligenin praktisch unlöslich, in heißem Eisessig, Methyl- und Äthylalkohol ist es besser löslich, in Pyridin leicht löslich.

Cholestol-Reaktionen: Wird eine kleine Menge Araligenin in 2 ccm Essigsäure-anhydrid gelöst und in diese Lösung eine Spur starker Schwefelsäure gebracht, so entsteht eine schwach violette Färbung; mit 1 Tropfen Schwefelsäure gibt es eine violette, bald grünlich werdende Färbung und eine schwach bronzene Fluorescenz, mit 3 Tropfen  $H_2SO_4$  eine violette Färbung, die sich rasch zu blau-violett, dann zu blau und schließlich zu grün verfärbt.

<sup>1)</sup> Die Verbrennungen geschahen sehr vorsichtig im offenen Rohre mit  $CuO + O_2$ ; die Substanz wurde im Schiffchen mit  $CuO$ -Pulver überdeckt, wie das bei Sapogeninen immer erforderlich ist.

## Einige Verbindungen des Araligenins.

## a) Das Kaliumsalz.

Das Araligenin verhält sich wie eine Carbonsäure mit einer Carboxylgruppe. Es läßt sich mit  $\frac{1}{10}$ -n. alkoh. Kali titrieren.

Titration: Werden 528 mg bei 150° getrockneten Araligenins in absol. Alkohol gelöst und mit  $\frac{1}{10}$ -n. alkoh. Kali gegen Phenol-phthalein titriert, so ist die Differenz gegenüber dem blinden Versuch 11.7 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. KOH. Für 1 COOH-Gruppe in  $C_{26}H_{42}O_3$  werden 13.1 ccm verlangt. Die Übereinstimmung ist nicht sehr groß, jedoch genügend, um auf das Vorhandensein nur einer Carboxylgruppe schließen zu lassen.

Wurde die titrierte Lösung mit Äther gemischt, so krystallisierte das K-Salz in farblosen, feinen Nadelchen aus, welche bei 330° noch nicht schmolzen.

0.1882 g Sbst. (bei 150° getrocknet): 0.0163 g Krystallwasser oder Krystallalkohol. — 0.1837 g Sbst (bei 150° getrocknet): 0.0362 g  $K_2SO_4$ .

$C_{26}H_{41}O_3K + 2 aq.$  Ber. Krystallwasser 7.56. Gef. 8.15.

$C_{26}H_{41}O_3K.$  Ber. K 8.89. Gef. K 8.82.

b) Verhalten des Araligenins bei der Acetylierung  
(ein Fall sterischer Hinderung).

Araligenin läßt sich nach der Acetylierungsmethode mit Essigsäure-anhydrid und wasserfreiem Natriumacetat nicht acetylieren. Das zurückerhaltene Araligenin besaß zwar den niedrigeren Schmp. 251° statt 275°, jedoch hatte die Substanz wieder in dem beim Araligenin benutzten absol.-Alkohol-Pyridin-Gemisch das  $\alpha_D = +70.7^\circ$  (Araligenin  $+71^\circ$ ) und gab bei der Verbrennung 77.71 % C und 10.08 % H (für Araligenin  $C_{26}H_{42}O_3$  werden 77.6 % C und 10.45 % H verlangt, während ein Acetyl-araligenin  $C_{28}H_{44}O_4$  75.67 % C und 9.91 % H erfordern würde).

Dagegen stellte sich heraus, daß der Methylester des Araligenins eine leicht acetylierbare Hydroxylgruppe enthält (siehe unten); man darf dementsprechend schließen, daß auch das Araligenin eine Hydroxylgruppe (außer der in der Carboxylgruppe) enthalten muß. Es liegt bei dem Araligenin also ein Fall von sterischer Hinderung vor, und zwar ist es sehr wahrscheinlich, daß die (wenigstens nach der gebräuchlichen Methode) nicht acetylierbare Hydroxylgruppe dem Einflusse der freien Carboxylgruppe ausgesetzt ist, also dieser Carboxylgruppe benachbart steht oder zum mindesten am selben Ringe haftet. Ein ganz ähnlicher Fall ist von Tamburello und mir<sup>1)</sup> bereits beim Hederagenin beschrieben worden.

<sup>1)</sup> B. 54, 3151 [1921].

## c) Methylester des Araligenins.

1. Darstellung nach der Methyljodid-Methode: 2.1 g des Araligenin-Natriums wurden ca. 1 Stde. mit 14 g Methylalkohol und 3.5 g Methyljodid erhitzt. Nach Hinzufügen von Wasser krystallisierte der Methylester aus; er wurde gesammelt und aus Methylalkohol umkrystallisiert. Bei ca. 120° tritt Sintern (Abgabe von Krystallwasser oder -alkohol?), jedoch erst bei 180° Schmelzen ein.

2. Darstellung nach der Dimethylsulfat-Methode: Auch hier wurde der Ester mit dem Schmp. 180° erhalten.

Eigenschaften: Wenn der Methylester während 1/2 Stde. mit *n*-alkohol. KOH oder 2 Std. mit 10-proz. KOH in 50-proz. Alkohol erhitzt wird, so bleibt er unangegriffen und wird mit nahezu unverändertem Schmp. (190°) zurückgewonnen. Wäre der Ester verseifbar gewesen, so hätte nach dem Ansäuern das ursprüngliche Araligenin vom Schmp. 275° entstehen sollen. Das ist eine bemerkenswerte Eigenschaft, aber immerhin steht sie nicht vereinzelt da. Ich beobachtete denselben Fall von sterischer Hinderung bei dem Methylester des Hederagenins, und auch bei den Estern der Pinabietinsäure,  $C_{20}H_{30}O_2$ , stellten Aschan und Virtanen<sup>1)</sup> eine sehr schwierige Verseifbarkeit fest. Hier muß also ebenfalls eine starke sterische Hinderung vorhanden sein.

Analyse des aus dem Acetat des Methylesters durch Verseifung gewonnenen Methylesters:

0.0850 g Sbst. (bei 110° getrocknet): 0.2392 g  $CO_2$ , 0.0790 g  $H_2O$ .

$C_{27}H_{44}O_3$ . Ber. C 77.9, H 10.57.

Gef. » 78.6, » 10.56.

## d) Monoacetyl-araligenin-methylester.

Darstellung: 400 mg des Methylesters wurden mit Essigsäureanhydrid (frei von Homologen) und wasserfreiem Natriumacetat 1/2 Stde. erhitzt. Das Acetat wurde durch Wasser abgeschieden, völlig ausgewaschen und getrocknet. Aus Methylalkohol, in welchem es schwer löslich ist, wurden 300 mg farbloser Nadelchen erhalten, welche auch nach Wiederholung der Umkrystallisation bei 217—218° schmolzen. Sie enthalten kein Krystallwasser.

0.225 g Sbst.: Differenz bei der Destilliermethode 5.6 ccm 1/10-*n*. Essigsäure.

$C_{25}H_{40}O(CO.CH_3)(COO.CH_3)$ .

Ber. 5.4 ccm 1/10-*n*. Essigsäure. Gef. 5.6 ccm 1/10-*n*. Essigsäure.

<sup>1)</sup> A. 424, 150 [1921]. Hier wird die Verwandtschaft zwischen Pinabietinsäure und Cholesterin bewiesen.

Aus Mangel an Substanz konnten die anderen Konstanten nicht bestimmt werden.

e) Zinkstaub-Destillation des Araligenins im  $H_2$ -Strom:  
Bildung von Terpen-Kohlenwasserstoffen der Formel  $C_5H_8$ .

Wie in früheren Fällen bei anderen Sapogeninen wurde auch hier mit Erfolg die Zinkstaub-Destillation im  $H_2$ -Strom benutzt. Wiederum wurde ein Terpen-Kern der Formel  $C_5H_8$  nachgewiesen, wobei aus Mangel an einer genügenden Menge Substanz jedoch unentschieden bleiben mußte, ob hier, wie das beim Hederagenin der Fall ist, Sesquiterpene vorliegen.

Das Araligenin wurde mit der 10-fachen Menge reinen Zinkstaubs aus einem Retörtchen, durch welches ein  $H_2$ -Strom geleitet wurde, aus einem Sandbade destilliert<sup>1)</sup>. Es ging auch hier ein Öl über, das mittels Äthers aus der Vorlage und dem Retortenhalse gesammelt wurde (die Lösung war licht braungelb mit grüner Fluoreszenz). Nach dem Filtrieren wurde der Äther vertrieben, wobei ein Öl mit brenzlichem, terpen-artigem Geruch zurückblieb. Es wurden im ganzen etwa 22½ % des Araligenins erhalten, was bei dieser möglichst quantitativ durchgeführten Bestimmung, bei welcher jedoch Verluste unvermeidlich waren, als ein Mindestwert anzusehen ist. Auch dieses Öl konnte wieder (wie die anderen, früher beschriebenen) durch Wasserdampf-Destillation in einen flüchtigen Anteil (ca. 10 % des Araligenins) und in einen nicht-flüchtigen Teil (ca. 13 % des Araligenins) getrennt werden. Ersterer stellte wiederum ein lichtgelbes, dünnes Öl mit terpen-artigem Geruch dar, letzterer eine geruchlose, braune Masse. Die mit Wasserdampf flüchtigen Anteile gaben wieder die violette Farbe mit Eisessig-Schwefelsäure, der mit Wasserdampf nicht-flüchtige Rest die blau-grüne Färbung. Wir haben also auch hier wieder dieselben Erscheinungen, wie ich sie bei den anderen Sapogeninen beobachtet habe (vergl. die früheren Mitteilungen).

Um auch hier zu erforschen, was mit der Carboxylgruppe des Araligenins bei der Zinkstaub-Destillation im  $H_2$ -Strom geschieht, wurde diese wieder wie in der vorigen Abhandlung bei Hederagenin<sup>2)</sup> ausgeführt, und unter den dort gegebenen Bedingungen Barytwasser vorgelegt. Es machte sich eine reichliche Abscheidung von  $BaCO_3$  bemerkbar, zugleich kondensierte sich im Retortenhals Wasser.

Das mit  $H_2O$ -Dampf flüchtige Öl der Zinkstaub-Destillation wurde über metallisches Natrium destilliert und hierbei als ein schwach gelbes Liquidum erhalten. Bei der Verbrennung mit

<sup>1)</sup> siehe die vorige Mitteilung, B. 55, 1054—1066 [1922].

<sup>2)</sup> B. 55, 1054—1066 [1922].

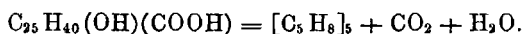
$\text{CuO} + \text{O}_2$  stellte es sich als ein Kohlenwasserstoff der Formel  $\text{C}_5\text{H}_8$  heraus. Leider fehlte es mir an Substanz, um mittels der Mol.-Gew.-Bestimmung zu prüfen, ob hier ein Sesquiterpen vorliegt.

0.0983 g Subst.: 0.3178 g  $\text{CO}_2$ , 0.1052 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_5\text{H}_8$ . Ber. C 88.23, H 11.77.

Gef. > 88.17, > 11.89.

Araligenin wird also folgendermaßen gespalten:



Nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über die Farbenscheinungen, auch die mit Essigsäure-anhydrid-Schwefelsäure erhaltenen.

	Liebermannsche Reaktion mit einer Spur Substanz + 2 ccm Essig + Spur $\text{H}_2\text{SO}_4$	desgl. + 2 ccm Essig + 1 Tropfen $\text{H}_2\text{SO}_4$	desgl. + 2 ccm Essigsäure-anhydrid + Spur $\text{H}_2\text{SO}_4$	desgl. + 2 ccm Essigsäure-anhydrid + 1 Tropfen $\text{H}_2\text{SO}_4$
Mit $\text{H}_2\text{O}$ -Dampf flüchtiger Anteil der Zinkstaub-Destillationsprodukte des Araligenins	rot-violett	schön violett	schnell vorübergehend violett, dann weniger schön violett, dann nach und nach nicht stark olivengrün, dann braun-gelb	violettstichig braun
Mit $\text{H}_2\text{O}$ -Dampf nicht-flüchtiger Anteil der Zinkstaub-Destillationsprodukte des Araligenins	bläulich-lichtgrün, dann blaugrün, dann grünlich-blau, dann blau	wie mit Spur $\text{H}_2\text{SO}_4$ , jedoch nicht so schön	schön dunkelviolet, nach und nach blau, dann olivengrün	schön violett, dann blau, dann olivengrün mit einem Stich ins Purpurene, also weniger gut als mit einer Spur $\text{H}_2\text{SO}_4$

#### Zusammenfassung.

1. Der Alkohol des Blattwachses ist Myricylalkohol.
2. Im Blatt- und Stengelpulver finden sich etwa 1.6% Saponine, welche aus wenigstens 3 Saponingruppen bestehen. Es kommen freie Saponine neben ihren Mg- und Ca-Salzen vor, welche nicht von normalem, wohl aber von basischem Bleiacetat ausgefällt werden. Die Menge des Saponins ist wechselnd.
3. Für die Gewinnung der Saponine ist es erforderlich, der Boorsmaschen Methylalkohol-Methode eine Extraktion mit 45-proz. Äthylalkohol folgen zu lassen, um auch die Salze der Saponine zu erhalten.

4. Die Saponine sind für Fische giftig und zeigen hämolytische Wirkung, und zwar das Mg-Salz etwa 3-mal so stark wie das freie Saponin.

5. Auch die Aralia-Saponine geben die violette Schwefelsäure-Reaktion der gewöhnlichen Saponine.

6. Sie spalten sich bei der Hydrolyse sehr schwer in *l*-Arabinose, eine Methyl-pentose, *d*-Glucose, *d*-Galaktose, *d*-Galakturonsäure und in Sapogenine. Jedes Saccharid wurde seiner Menge nach bestimmt. Andere Saccharide und Säuren liegen nicht vor.

7. Aus dem Sapogenin-Gemisch wurde ein weißes, chemisch reines, schön krystallisiertes Sapogenin mit dem Schmp. 275° abgeschieden.

8. Dieses reine Araligenin, das sublimierbar ist, krystallisiert aus Äthylalkohol mit Krystallalkohol. Nur infolge des wechselnden Krystallalkohol-Gehaltes werden auch die Schmp. 301°, 311° und 273—274° erhalten. Bei 150° getrocknet, besitzen alle diese Substanzen dieselbe spez. Drehung und dieselbe Zusammensetzung. Das bei 150° getrocknete Araligenin ist ein chemisch reiner Körper.

9. Es hat die Formel  $C_{25}H_{40}(OH)(COOH)$  und zeigt (in Pyridin + Alkohol)  $[\alpha]_D = +71^\circ$ .

10. Das Araligenin gibt die Liebermansche Cholestol-Reaktion (violett, dann blau, später grün).

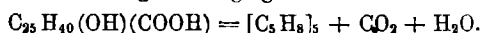
11. Es wurden ein krystallinisches Kaliumsalz, ein Methylester (Schmp. 180°) und ein Monoacetyl-methylester (Schmp. 217—218°) erhalten. Der Methylester wird von 10-proz. KOH in 50-proz. Alkohol in 2 Stdn. nicht verseift. Es liegt hier also ein Fall starker sterischer Hinderung vor.

12. Das Araligenin enthält eine Hydroxylgruppe, welche, infolge der sterischen Hinderung durch die freie Carboxylgruppe, nach der gewöhnlichen Acetylierungsmethode nicht acetyliert werden kann. Erst wenn man die Carboxylgruppe durch Veresterung geschützt hat, gelingt die Acetylierung glatt. Also auch hier ein Fall sterischer Hinderung.

13. Bei der Zinkstaub-Destillation im  $H_2$ -Strome wird das Araligenin in Terpen-Kohlenwasserstoffe, Kohlendioxyd und Wasser gespalten. Die Terpen-Kohlenwasserstoffe wurden auch in diesem Fall getrennt in mit Wasserdampf flüchtige, leichte Anteile, welche wieder die violette Eisessig-Schwefelsäure-Reaktion geben, und in einen mit Wasserdampf nicht flüchtigen Rest, der die blaue, später grüne Eisessig-Schwefelsäure-Reaktion zeigt.

14. Das mit Wasserdampf flüchtige, leichte, terpen-artig riechende Öl der Zinkstaub-Destillation hat genau die Zusammensetzung  $[C_5H_8]_n$ .

15. Die Spaltungsgleichung des Araligenins bei der Zinkstaub-Destillation im  $H_2$ -Strome kann vorläufig wie folgt geschrieben werden:



Utrecht (Holland), Juni 1922.