

Beiträge zur Kenntnis der Saponine.

Von

E. Winterstein und H. Blau.

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 5. Oktober 1911.)

Die Saponine bilden eine im Pflanzenreich ziemlich weit verbreitete Klasse von Verbindungen, die durch besondere Eigenschaften ausgezeichnet sind. Eine eigenartige bis jetzt noch nicht mit Sicherheit aufgeklärte physiologische Wirkung besteht darin, daß Saponine in sehr stark verdünnter, wässriger bezw. physiologischer Kochsalzlösung hämolytisch wirken.

Wir verdanken R. Kobert eine Reihe von vortrefflichen Untersuchungen über die Giftwirkungen verschiedener Saponine. Unter Koberts Leitung sind eine große Anzahl von Saponinen aus Pflanzen dargestellt und untersucht worden. Bezüglich der großen chemischen und pharmakologischen Literatur verweisen wir auf die Dissertation von H. Blau¹⁾ und die Arbeiten von R. Kobert.²⁾ In der erstgenannten Arbeit ist die umfangreiche Literatur, wenn nicht ganz vollständig, so doch zum größten Teil aufgeführt.

Die meisten der bisher untersuchten Saponine konnten bis jetzt nur in amorphem Zustand erhalten werden; einige wurden in deutlich ausgebildeten Krystallen erhalten. Die meisten Saponine sind in Wasser außerordentlich leicht löslich, die wässrigen Lösungen geben beim Schütteln einen dauernden Schaum; daher finden die Saponine schon seit den ältesten Zeiten Anwendung zum Waschen und in neuerer Zeit auch bei

¹⁾ Beiträge zur Kenntnis der Saponine. Inauguraldissertation. Zürich 1911.

²⁾ R. Kobert. Die Saponine. Bioch. Handlexikon, Bd. 7, S. 145.

der Herstellung von schäumenden Getränken. In kochendem verdünnten Methyl- und Äthylalkohol sind sie ebenfalls löslich, unlöslich dagegen in Chloroform, Äther, Benzol, Ligroin, Aceton.

Bei der Spaltung mit Säuren liefern die Saponine Zuckerarten und komplizierte mit dem Namen Sapogenine bezeichnete Substanzen. Bei Durchsicht der Literatur fanden wir, daß es in den meisten Fällen nicht gelungen war, die Zuckerarten in reinem Zustande zu isolieren, und daß daher noch manche Unklarheit in bezug auf die Spaltungsprodukte herrscht.

Unsere Arbeit beschäftigt sich daher hauptsächlich mit der Untersuchung der durch Mineralsäuren entstehenden Produkte, wobei wir in erster Linie die Zuckerarten berücksichtigten, aber auch auf das daneben entstehende Sapogenin lenkten wir unsere Aufmerksamkeit.

Für unsere Versuche verwendeten wir 2 Präparate: das eine wurde aus einer Sapindusart, das andere aus Roßkastanien (*Aesculus Hippocastanum*) dargestellt. Über die botanische Bezeichnung der von uns verwendeten, aus Algier stammenden Seifennüsse macht uns Herr Professor Radlkofer in München folgende Angaben: Die übersandten Früchte stammen von einer in Algier kultivierten Varietät des in China und Japan wachsenden *Sapindus Mukorossi* Gaertn., welche ich als var. *earinatus* bezeichnet habe (Sitzungsber. Königl. Bayer. Ak., Bd. 8, S. 395, 1878) und welche vielleicht als ein Bastard von *Sapindus Mukorossi* Gaertn. und *Sapindus Rarak* D. C. anzusehen ist. Trabut hat dieselbe als besondere Art aufgefaßt und *Sapindus utilis* genannt (Revue hortic., Bd. 67, S. 305, 1895).

Wir benützten Seifennüsse, weil die Darstellung des Saponins aus den Fruchtschalen wegen des großen Gehalts an Saponin relativ leicht durchführbar ist. Da wir für unsere Untersuchung größerer Mengen von Seifennüssen bedurften, das Trennen der Fruchtschalen von den Nüssen, die Extraktion und Reinigung des Saponins mit den in unserem Laboratorium zur Verfügung stehenden Mitteln außerordentlich zeitraubend war, so übernahm es die Firma F. Hoffmann-La Roche & Cie. in Basel, uns größere Mengen des für unsere Untersuchung notwendigen Saponins aus *Sapindus*früchten darzustellen. Es

sei uns gestattet, auch an dieser Stelle der genannten Firma unseren ergebensten Dank für dieses Entgegenkommen, durch welches unsere Untersuchung wesentlich gefördert wurde, auszusprechen. Die Darstellung geschah ungefähr nach dem bei Robkastanien angegebenen Verfahren.

Das für unsere Untersuchung verwendete Präparat ist ein weißes, leicht stäubendes, zum Nießen reizendes Pulver. Der Staub greift die Augen und Atmungsorgane stark an. Eine vergleichende Untersuchung mit Saponinen anderer Herkunft ergab jedoch das beachtenswerte Resultat, daß unser Saponin nicht stärker hämolytisch wirkt als die Vergleichssaponine, auch auf Fische wirkte es nicht giftiger.

Das Saponin reduziert Permanganat in der Kälte: es absorbiert reichlich Brom. Bei 100° bräunt es sich, quillt bei höherer Temperatur auf und zersetzt sich unter Bildung von brennenden Gasen, gleichzeitig tritt intensiver Harzgeruch auf.

Das Präparat enthielt 5% Feuchtigkeit und 2,8% Aschenbestandteile.

Alle Versuche, dieses Saponin in krystallinischen Zustand überzuführen, fielen bis jetzt negativ aus. Wir haben uns wochenlang abgemüht, durch fraktionierte Fällung der wässrigen oder alkoholischen Lösungen mit Äther, Aceton eine Trennung amorpher von krystallinischen Bestandteilen herbeizuführen, auch in anderer Weise wurde versucht, eine krystallinische Verbindung zu erhalten. Da das Saponin bei der Spaltung mit Säuren mehrere Zuckerarten liefert, wobei noch das komplizierte Sapogenin neben anderen Verbindungen gebildet wird, so ist es nicht ausgeschlossen, daß das von uns untersuchte Saponin ein Gemenge verwandter Körper ist. Möglicherweise liegen die Verhältnisse ähnlich wie bei den Eiweißstoffen und amorphen Kohlenhydraten der Pflanzen.

Es erschien uns angezeigt, außer dem Saponin einer tropischen Pflanze auch dasjenige einer einheimischen Pflanze zu untersuchen. Wir benützten hierzu die Samen von *Aesculus Hippocastanum*, weil sie relativ viel Saponin enthalten und weil wir beabsichtigen, Studien über die Keimung dieser Samen anzustellen und zu untersuchen, welche Veränderung das Saponin

beim Keimen erleidet. Die Darstellung geschah nach der Methode von L. Weil.¹⁾

6 kg von Schalen befreiter Trockensubstanz wurden zweimal mit Methylalkohol ausgekocht, die rotbraunen Extrakte wurden konzentriert und mit Äther gefällt, wobei ein hellgelber fadenziehender Niederschlag entstand. Erhalten ca. 600 g = 10% Ausbeute.

Zur weiteren Reinigung wurde die Masse mit 50%igem Methylalkohol in ca. 10%iger Lösung mit säurefreiem Bleihydroxyd gekocht. Kochdauer 30 Stunden unter öfterer Erneuerung des Bleihydroxyds. Dann wurde heiß filtriert, mit heißem Wasser gewaschen, mit H₂S entbleit und auf $\frac{1}{3}$ des Volumens auf dem Wasserbade verdampft. Bei längerem Stehen schieden sich wenige Krystalle aus, diese lösten sich leicht im Wasser und gaben nach dem Kochen mit Säuren Reduktion der Fehlingschen Lösung, waren also vermutlich Rohrzuckerkrystalle. Der Rest der Flüssigkeit wurde im Vakuum verdunstet.

Es hinterblieb ein rotbrauner, amorpher, pulverisierbarer Kuchen. In Pulverform war er hellgelb, äußerst hygroskopisch, zu einem hellbraunem Sirup — schon nach wenigen Minuten — zerfließend. Dieser wurde im Exsikkator über Phosphorpentoxyd aufbewahrt.

Dieses Saponin besitzt einen süßlich widerlichen Geruch: schmeckt süß, bald jedoch tritt ein herber adstringierender Beigeschmack auf.

Es ist leicht löslich in Wasser, sowie verdünntem Methyl- und Äthylalkohol, gut löslich in Eisessig, etwas löslich in 95%igem heißem Alkohol, Benzol und Amylalkohol, fast unlöslich in Aceton, Chloroform, Äther, Schwefelkohlenstoff, Essigsäuremethylester, vollkommen unlöslich in absolutem Alkohol und Petroläther. Die alkoholische Lösung ist mit Aceton fällbar.

In Lauge, sowie Ammoniak ist es mit hellgelber Farbe leicht löslich. Bei längerem Kochen tritt intensiver Geruch nach kochender Wolle auf.

Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure lösen es voll-

¹⁾ Verfahren zur Darstellung von Saponin. D. R. 144760, Kl. 120, 1906.

ständig auf. Läßt man eine solche Lösung in mäßiger Konzentration einige Zeit stehen, so erhält man eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit, bei längerem Stehen nimmt das Reduktionsvermögen zu, wobei sich allmählich eine stark glänzende, scheinbar krystallinische Substanz ausscheidet.

Alle Versuche, dieses Saponin in krystallinischem Zustand zu erhalten, waren erfolglos. Fällt man das gereinigte Saponin aus alkoholischer Lösung mit Äther fraktionsweise aus, so erhält man Substanzen, die in ihren Eigenschaften keine Abweichung zeigen. Trotzdem möchten wir zurzeit noch nicht behaupten, daß dieses Saponin eine einheitliche Substanz ist.

Konzentrierte Salpetersäure löst es mit gelber Farbe, gießt man diese kurze Zeit erwärmte Masse in Wasser, so scheidet sich ein in Äther leicht lösliches Produkt aus. Konzentrierte Schwefelsäure löst es mit rotvioletter Farbe, die bald in eine braune Trübung übergeht.

Auffallend ist die leichte Spaltbarkeit des Roßkastanien-saponins im Gegensatz zum Saponin aus Sapindus. Eine wässrige Lösung dieses Saponins, mit etwas konzentrierter Säure versetzt, scheidet alsbald eine amorphe Substanz aus, wobei eine reduzierende Lösung entsteht. Auch organische Säuren wie Wein-, Citronen-, Essig- und sogar Pikrinsäure bewirken eine Spaltung. Längeres Kochen mit verdünnten Laugen bewirkt keine Spaltung in Zucker und wasserunlösliche Substanz.

Dieses Saponin reduziert viel schwächer als das aus Seifennüssen dargestellte. Permanganat wird langsamer und in geringerer Menge reduziert, Sublimat wird nicht zu Calomel reduziert. Dagegen ist die Berlinerblaureaktion mit Ferricyankalium und Ferrichlorid, sowie die sogenannte Vamvakasche Reaktion (Reduktion von Nessler's Reagens) positiv.

Das Saponin kann bis 105° ohne Zersetzung getrocknet werden, bei höheren Temperaturen bildet es eine pechartige, nach Caramel riechende Masse und zersetzt sich zuletzt unter Entwicklung eines mit rußender Flamme brennbaren Gases.

Dieses Kastaniensaponin besaß 2,5% Asche und trotz längeren Aufbewahrens über P_2O_5 noch 6% Feuchtigkeit.

Einwirkung von Säuren auf die beiden Saponine.

Behufs hydrolytischer Spaltung der Saponine wurden dieselben bisher in den meisten Fällen mit 3—5%iger Schwefelsäure gekocht, wobei sich ein unlöslicher Körper ausschied; diese amorphe Ausscheidung wurde von manchen Autoren, ohne weitergehende Reinigungsprozeduren, der Analyse unterworfen und als ein einheitliches Spaltungsprodukt angesehen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß man hierbei aus manchen Saponinen tatsächlich ein einheitliches Produkt erhält, aber bei dem aus *Sapindus* und *Aesculus* darstellbaren Saponinen trifft dies nicht zu. Die ausgeschiedenen Produkte sind ein Gemisch verschiedener Körper.

Das Robkastaniensaponin¹⁾ ist durch organische Säuren (Essigsäure, Citronensäure, Weinsäure) leicht spaltbar; schon in der Kälte erhält man eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit. In der Wärme erfolgt nach kurzer Dauer der Einwirkung eine amorphe Ausscheidung. Es wurden z. B. Saponinlösungen mit 10%iger Weinsäure auf dem Wasserbade eine Stunde erwärmt, wobei sich eine beträchtliche Menge von unreinem Sapogenin ausschied, ein Beweis, daß schon eine weitgehende Spaltung des Saponins erfolgt war.

Das *Sapindus*-Saponin wird durch Essigsäure unter Bildung von Zucker rasch hydrolysiert, ohne daß zunächst eine Ausscheidung von Sapogenin oder unlöslichen Zwischenprodukten erfolgt.

5 g Saponin wurden mit 20 ccm Eisessig in 100 ccm Wasser und 20 Tropfen Phenylhydrazin 1½ Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Nach 12stündigem Stehen hatte sich eine große Menge von nahezu reinem Osazon ausgeschieden, dieses wurde durch Absaugen von der Flüssigkeit getrennt in verdünntem Alkohol unter Zusatz von etwas Pyridin gelöst, die Lösung abfiltriert und stehen gelassen. Die ausgeschiedenen hellgelben Nadeln schmolzen bei raschem Erhitzen bei 205°.

¹⁾ Zu diesen Versuchen kochten wir das Saponin zuvor mit größeren Mengen 98%igen Alkohols aus und benützten das nach dem Erkalten ausgeschiedene Saponin.

Die Bildung eines Osazons beim Erhitzen mit Essigsäure und Phenylhydrazin im Wasserbade wurde bei beiden untersuchten Saponinen beobachtet.

Löst man Saponin in Essigsäureanhydrid oder Eisessig und verdünnt mit Wasser, so erhält man eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit. Daraus folgt, daß auch beim «Acetylieren» eine partielle Abspaltung von Zucker erfolgen muß, wie aus folgendem Versuch hervorgeht.

0,3 g Saponin wurden mit 10 ccm Essigsäureanhydrid übergossen und das Gemisch einige Zeit im Wasserbad erwärmt, darauf wurde das Reaktionsgemisch in Wasser gegossen, das ausgeschiedene «Acetylprodukt» durch Ausäthern entfernt. Die vom Äther getrennte wässrige Lösung reduziert Fehlingsche Lösung und gab auch die Pinoffsche Reaktion. Es wurde von verschiedener Seite versucht, die Saponine durch «Acetylieren» und darauffolgende Verseifung des Acetylproduktes zu reinigen: wie aus den beschriebenen Versuchen hervorgeht, wird hierbei das aus Sapindus und Robkastanien darstellbare Saponin nicht unwesentlich verändert. Kobert¹⁾ führt an, daß bei der von Stütz vorgeschlagenen Acetylierung und Regenerierung des Saponins eine Substanz erhalten wird, die physiologisch als nahezu unwirksam bezeichnet werden muß. Es ist eine weitere Aufgabe unserer Untersuchung, festzustellen, ob es sich bei diesem Vorgang der Reinigung des Saponins lediglich um eine Abspaltung eines Kohlenhydratkomplexes handelt, oder ob weitere Veränderungen des Saponinmoleküls hierbei erfolgen.

Von den anorganischen Säuren kommen als spaltende Agenzien Schwefel-, Salz- und Phosphorsäure in Betracht. Am energischsten und raschesten spaltet Salzsäure: Erhitzt man Saponin mit einem größeren Überschuß von 2%iger Salzsäure eine Stunde, so hinterbleibt ein amorphes Produkt, welches nur noch 8,3% Zucker beim Kochen mit stärkerer Säure abspaltet. Bei einem ähnlichen Versuch mit 2%iger Schwefelsäure bei 90° resultierte ein noch 32,3% Zucker enthaltender Rückstand.

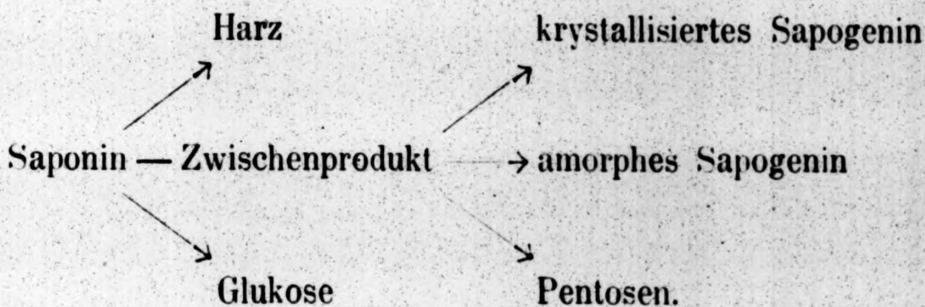
¹⁾ Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden von Abderhalden. Bd. 2. 2. Hälfte, S. 979.

Für die Hydrolyse verwendeten wir meistens Schwefelsäure, weil diese Säure nach der Salzsäure die Hydrolyse am besten bewerkstelligt und weil sie leicht mit Baryumhydroxyd aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden kann. Erhitzt man Sapindus-Saponin mit 2—5%iger Schwefelsäure, so resultiert ein unlöslicher Rückstand, der bei weiterem Kochen mit 10%iger Schwefelsäure noch wechselnde Mengen Zucker bezw. reduzierende Substanz liefert.

Erhitzt man Roßkastaniensaponin oder Saponin aus Sapindus mit ganz verdünnter Schwefelsäure oder läßt man die genannten Saponine mit 2%iger Schwefelsäure längere Zeit in der Kälte stehen, so scheidet sich allmählich eine amorphe Verbindung aus, welche bei der weiteren Spaltung mit kochender Säure Pentosen liefert. H. Blau hat in seiner Dissertation diese Substanzen der Abkürzung halber mit dem Namen Pentosid bezeichnet. Da aber je nach der Stärke der Säure und Versuchsanordnung Produkte von etwas abweichendem Verhalten resultieren, wollen wir diese Substanzen hier vorläufig als pentosehaltige Zwischenprodukte bezeichnen.

Neben diesen Zwischenprodukten entsteht auch eine kleine Menge Harz und Sapogenin. Das Zwischenprodukt gibt beim Spalten mit Säure in der Hitze ein krystallinisches und ein amorphes Sapogenin neben Pentosen.

Man kann die Spaltung durch nachstehendes Schema andeuten:



Folgender Versuch gibt einen Aufschluß über die Mengen der einzelnen beim Kochen mit 5%iger Schwefelsäure gebildeten Produkte. 2,1324 g Saponin = 2,026 g Trockensubstanz wurden mit 80 ccm 5%iger Schwefelsäure 1½ Stunden lang am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten

wurde vom ausgeschiedenen hellgelben Produkt abfiltriert, dieses dreimal mit Wasser ausgekocht, das Waschwasser wurde mit dem Filtrat vereinigt. Der unlösliche Rückstand wurde zunächst im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure und dann im Trockenschrank bei 98° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wurden 0,5042 g = 24,79% an « unreinem Sapogenin » erhalten.

Die Gesamtmenge der Flüssigkeit betrug 163 ccm; hiervon wurden 20 ccm mit Natronlauge neutralisiert und darin der Zucker nach Fehling-Allihn bestimmt. Es wurden 0,1554 g Zucker berechnet als Dextrose gefunden = 62,51% vom Saponin.

Der Rest des Filtrates wurde mit Baryumhydroxyd genau neutralisiert, die vom Baryumsulfat getrennte Lösung eingedunstet und die Flüssigkeit sodann mit Bleiessig gefällt; es entstand ein brauner voluminöser Niederschlag. Das davon getrennte Filtrat wurde mittels Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, die bleifreie Lösung zum Sirup eingedunstet, der Sirup mit 95%igem Alkohol extrahiert und die alkoholische Lösung mit Äther gefällt, dabei scheidet sich ein gelbgefärbter Sirup aus, welcher nach dem Auswaschen mit Alkoholäther die Fehlingsche Lösung nicht mehr reduziert. Die Menge betrug 0,1746 g = 9,82%. Dieses Produkt gibt noch die Saponinreaktionen, ob es sich aber um vollständig unverändertes Saponin handelt, haben wir vorläufig nicht untersucht.

Läßt man eine 5—10%ige Saponinlösung mit verdünnter Schwefelsäure stehen, so erfolgt, wie oben gesagt wurde, die Ausscheidung des « pentosehaltigen Zwischenproduktes »: diese Ausscheidung beginnt schon nach einigen Stunden, zuweilen in Form glänzender, scheinbar krystallinischer Flocken; erst nach wochenlangem Stehen ist die Abscheidung vollendet. Beim Hydrolysieren mit 5%iger Schwefelsäure, wobei die Temperatur nicht über 15° stieg, wurden folgende Ausbeuten an dem Zwischenprodukt erhalten:

nach 10 Tagen	13,15%
35	15,03%
75	15,26%

Folgende Tabelle gibt Aufschluß über den Verlauf der Hydrolyse beim Erwärmen mit 2%iger Schwefelsäure:

Gang der Bestimmung.

4,2223 g lufttrockenes Saponin — entsprechend 4,0012 g wasserfreien — wurden mit 100 ccm 2%iger Schwefelsäure eine Stunde am Wasserbade mit Rückfluskkühler erwärmt. Nach dem Erkalten wurde filtriert und Niederschlag mit heißem Wasser gewaschen.

Niederschlag I

war hellgelb. Erhalten wurde nach dem Trocknen bei 96°: 1,003 g = 25,07%.

Dieser wurde mit 20 ccm 5% H₂SO₄ in 1 1/2 Stunden auf freier Flamme vollkommen zersetzt, vom Sapogenin abfiltriert. Die Lösung wurde mit NaOH u. Phenolphthalein genau neutralisiert und Zuckergehalt nach Fehling-Allihn bestimmt.

Erhalten: 0,6483 g Cu₂O
 = 0,576 g Cu = 0,305 g Dextrose = 30,44% Dextrose.

Filtrat I

je 20 ccm des Filtrates wurden mit NaOH neutralisiert und der Zuckergehalt bestimmt:
 Erhalten: 0,402 g Cu₂O und 0,407 g Cu₂O, das ist:
 0,360 g Cu = 0,190 g Dextrose = 39,92% Dextrose.

Die übrige Lösung, die mit den Waschwassern 126 ccm betrug, wurde mit H₂SO₄ wieder auf 2% gebracht und eine Stunde lang zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurde filtriert.

Niederschlag II

war schon bedeutend dunkler wie Niederschlag I. Nach Trocknen bei 96°:
 0,2866 g = 7,16% des angewandten Saponins.
 Wurde mit 5%iger H₂SO₄ wie Niederschlag I behandelt und in der Lösung der Zuckergehalt bestimmt:
 Erhalten: 0,0528 g Cu₂O
 = 0,0469 g Cu = 0,0244 g Dextrose = 8,51% oder 0,80% Dextrose berechnet auf das angewandte Saponin.

Filtrat II

verlor die für Saponinlösungen charakteristische schäumende Eigenschaft.

In 20 ccm wurde der Zuckergehalt wie oben bestimmt:
 Erhalten: 0,2939 g Cu₂O = 0,2669 g Cu = 0,1351 g Dextrose = 49,61% Dextrose für das gesamte Saponin berechnet.
 Die übrige Lösung ward auf 5% H₂SO₄-Gehalt gebracht und eine Stunde zum Kochen erhitzt. Nach dem Erkalten wurde filtriert.

Niederschlag III

war braunes Harz. Bei 96° getrocknet:
 Erhalten: 0,01 g = 0,32%.

Filtrat III

in 20 ccm Zuckergehalt bestimmt: Erhalten: 0,2464 g Cu₂O = 0,2187 g Cu = 0,1127 g Dextrose = 48,36% für das gesamte Saponin berechnet.

Daraus ergibt sich folgendes: Beim Erwärmen mit 2%iger Schwefelsäure auf dem Wasserbade werden etwas mehr als 25% einer unlöslichen Substanz erhalten, welche beim Kochen mit 5%iger Schwefelsäure noch 30,44% Zucker, berechnet als Dextrose, abspaltet. Nach weiterem einstündigem Erwärmen werden noch 7,16% unlöslicher Substanz, welche bei weiterer Spaltung noch 8,5% Zucker liefert, erhalten. Nach dreistündigem Kochen scheiden sich noch weitere 0,3% amorpher Substanz aus. Die Gesamtmenge der unlöslichen Substanz beträgt somit 32,55% des angewendeten Saponins. Nach zweistündigem Erwärmen schäumte die Lösung nicht mehr. Die nach zweistündigem Erwärmen abgespaltene Zuckermenge betrug 49,61%, berechnet als Dextrose.

Kocht man Saponin mit 5%iger Schwefelsäure auf freier Flamme, so erhält man folgende Ausbeuten an Zucker. Das ausgeschiedene, amorphe Produkt ist sodann zuckerfrei. Eine 3%ige Saponinlösung wurde mit einem großen Überschuß 5%iger Schwefelsäure über freier Flamme gekocht und in einem Teil der Lösung der Zuckergehalt bestimmt. Es wurden erhalten:

nach $\frac{1}{2}$ Stunde	59,95 %	Zucker (als Dextrose)
1	60,87 %	»
2 Stunden	58,86 %	»

Spaltung der Saponine durch Fermente.

In seinem Buche «Beiträge zur Kenntnis der Saponin-substanzen» sagt Kobert: «daß die Zerlegung von Saponin-substanzen durch animalische Enzyme nur in seltenen Fällen und auch dann nur spurweise gelingt, Sapogenin konnte nie nachgewiesen werden und Zucker nur in geringer Menge.

Seither fand Gonnermann,¹⁾ daß bei Einwirkung von Rinder- und Hasenleber Emulsin und Tyrosinase, etwas Zucker, ohne Ausscheidung von Sapogenin, abgespalten wird.

¹⁾ M. Gonnermann. Die Wirkung einiger Enzyme und Darmbakterien auf einige Glukoside und Alkaloide. Apotheckerzeitung. Bd. 21. S. 976 ff. 1906.

Da bisher kein anderer Versuch bekannt geworden ist, unternahmen wir es, diese Spaltung zu studieren. Zu den Versuchen wurden Taka Diastase, Diastase und Invertin genommen. Um möglichst bakteriellen Einfluß auszuschließen, wurden sämtliche Gefäße und Apparate sterilisiert, die Saponinlösung 10 Minuten lang zum lebhaften Sieden erhitzt.

Zu den Bestimmungen wurden 1%ige Saponinlösungen mit 0,01 g Ferment versetzt und mit einem sterilisierten Wattebausch verschlossen bei 38° C. stehen gelassen. Nach Verlauf von einigen Stunden wurde ein bestimmter Teil der Lösung herauspipettiert und auf Zucker nach Allihn-Fehling geprüft.

Es konnte bei beiden Saponinen abgespaltener Zucker nachgewiesen werden.

Eine in gleicher Weise dargestellte enzymfreie Saponinlösung zeigte auch nach 18 Stunden noch keine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit.

Läßt man die sterilisierte Saponinlösung mit der Fermentlösung längere Zeit stehen, so scheidet sich allmählich eine «Fällung» aus. Um einigermaßen Aufschluß über die Quantitäten des dabei gebildeten Zwischenglukosides zu erhalten, werden 5 g Saponinlösung mit 0,1 g Takadiastase bzw. gewöhnlicher Diastase mehrere Tage bei 37° im Brutschrank stehen gelassen, die dabei entstandene Ausscheidung auf ein Filter gebracht, so gut wie möglich ausgewaschen, was bei der schleimigen Beschaffenheit recht zeitraubend und schwierig ist. Der Filterrückstand wurde in kochendem Alkohol gelöst, die filtrierte Lösung in Platinschalen eingedunstet und der dabei erhaltene bei 105° getrocknete Rückstand gewogen. Die Menge des aus Sapindus-Saponin erhaltenen Zwischenglukosides schwankte von 1—2%, beim Robkastaniensaponin betrug sie in einem Falle zirka 7%.

Die bei der Digestion mit Fermenten erhaltene Zuckermenge schwankte beim Sapindus-Saponin zwischen Spuren und 2,5%. Beim Robkastanien-Saponin war sie größer. Beim Stehenlassen der Saponinlösung mit Fermenten wurde stets eine Trübung beobachtet, wie man sie bei Bakterienkulturen sehen kann, außerdem trat ein eigenartiger, gewissermaßen an Fettsäuren

erinnernder Geruch auf, es ist somit auch nicht undenkbar, daß durch bakterielle Wirkung eine Bildung von Säuren hervorgerufen wird, welche dann ihrerseits eine partielle Spaltung des Saponins bewirken. Da man die Fermentlösungen nicht sterilisieren kann, so läßt sich eine bakterielle Mitwirkung schwer ausschließen. Die Frage soll durch besondere Versuche mit Bakterien noch geklärt werden.

Die bei den genannten Versuchen entstehenden Mengen von sauer reagierenden Verbindungen ist nicht unbedeutend, wie aus folgendem Versuch hervorgeht:

50 ccm einer 1%igen sterilen Sapindus-Saponinlösung wurden mit 0,05 g Taka-Diastase und eine gleiche Lösung ohne Ferment 2 Tage bei 38° stehen gelassen; in beiden Proben wurde sodann der Säuregehalt mit 1,5-n-Natronlauge unter Benützung von Phenolphthalein bestimmt. Die fermentfreie Probe verbrauchte 1,9 ccm, die fermenthaltige 3,2 ccm; dieses entspricht 0,0104 g NaOH oder auf 100 g Saponin 2 g NaOH.

Das beim Stehenlassen mit Fermenten gebildete Zwischen-glukosid gab mit Phloroglucin und Salzsäure die bekannte Pentosenreaktion, beim Kochen des Produktes mit Salzsäure wurde eine die Fehlingsche Lösung stark reduzierende Flüssigkeit erhalten.

Die Spaltungsprodukte der Saponine.

Die bei der Spaltung unserer beiden Saponine mit organischen und anorganischen Säuren entstehenden primären Produkte fanden wir stets pentosehaltig. Diese pentosehaltigen Zwischenprodukte besitzen einen wechselnden Gehalt an Kohlenhydratresten je nach der Dauer der Einwirkung und Konzentration der Säure. Es ist denkbar, daß manche von anderen Forschern dargestellte Sapogenine solche Zwischenprodukte einschlossen.

Wir haben eine Reihe solcher Zwischenprodukte hergestellt, diese sodann durch längeres Kochen mit stärkerer Säure gespalten und in der Lösung die Zuckermenge nach Allihn bestimmt. Zur Berechnung wurde, bei zwei Minuten Kochdauer mit Fehlingscher Lösung, die in Lippmann, Chemie

der Zuckerarten Bd. I, S. 98, angegebene Zahl 1 Mol. Arabinose = 2 Mol. Cu verwendet. Ferner wurde der Pentosengehalt nach der Methode von Tollens durch Destillation mit Salzsäure bestimmt. Zur Umrechnung des Pentosegehaltes aus der Menge der erhaltenen Phloroglucinfällung benützten wir die Tabelle von Kröber.¹⁾ Wir fanden folgende Werte:

‰ Arabinose nach Allihn	‰ Arabinose nach Tollens
Präparat I 39,65	39,00
» II 45,89	45,64
» III 41,53	42,13
» IV 35,57	38,35.

Darstellung der pentosehaltigen Zwischenprodukte. 200 g lufttrockenes Saponin aus *Sapindus* wurden mit 2 l 5%iger Schwefelsäure versetzt, mit etwas Toluol überschichtet und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Schon nach mehreren Stunden begann die Ausscheidung des Zwischenproduktes in Form von glänzenden Schuppen, welche sich nach Verlauf einiger Tage in Form eines festen Niederschlags abgesetzt hatten. Nach 15 Tagen wurde die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit abdekantiert, der Niederschlag auf ein Filter gebracht und mit Wasser bis zur neutralen Reaktion ausgewaschen. Diese Operation ist wegen der klebrigen Beschaffenheit der Fällung außerordentlich zeitraubend und kann mit Erfolg nur durchgeführt werden, indem man das Filter öfters erneuert. Behufs weiterer Reinigung, vor allen Dingen aber um adsorbiertes Saponin vollständig zu entfernen, wurde der Niederschlag mit warmem 95%igen Alkohol behandelt, worin er sich leicht auflöste, die filtrierte Lösung wurde in viel Wasser gegossen, nun etwas Essigsäure zugefügt und die Ausscheidung wieder auf ein Filter bzw. Nutsche gebracht, dann zwischen Fließpapier und zuletzt im Exsikkator getrocknet; oder wir lösten die noch feuchte Fällung in Aceton, filtrierten ab und ließen die Acetonlösung im Exsikkator verdunsten und trockneten zuletzt noch bei 95°. Wir erhielten nach dem Pulverisieren ein weißes Pulver. Produkt I.

¹⁾ Biochem. Arbeitsmethoden. Abderhalden. Bd. 2, S. 154.

250 g lufttrockenes Saponin wurden mit 2 l 1%iger Schwefelsäure 25 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, die Flüssigkeit von der entstandenen Ausscheidung durch Dekantation getrennt und auf dem Filter mit 1 l Wasser ausgewaschen. Die erhaltene schwach bläulich gefärbte Masse wurde mit 150 ccm 95%igem Alkohol erwärmt, wobei sich alles mit schwach amethystblauer Farbe auflöste. Ein Teil dieser Lösung wurde in $\frac{1}{2}$ l Wasser eingegossen, wobei auch auf Zusatz von wenig Essigsäure keine Ausscheidung eintrat. Erst nach 2tägigem Stehen bildete sich eine durchsichtige, schwach blau gefärbte Gallerte, welche nach 8stündigem Erwärmen in kochendem Wasserbade unter Zusatz von 1 ccm Eisessig allmählich undurchsichtig wurde.

Die entstandene Ausscheidung wurde abfiltriert und mit 300 ccm Wasser ausgewaschen, der weiße Rückstand auf einer Tonplatte getrocknet und durch Acetonbehandlung in pulverisierbare Form gebracht.

Erhalten ca. 10 g = 4% Produkt II.

Die vom Produkt I befreite Flüssigkeit wurde sodann ca. 8—10 Stunden lang im Wasserbade bei 70° stehen gelassen, wobei sich wieder eine weiße Fällung ausschied, die durch nachträgliche Untersuchung ebenfalls als pentosehaltig erkannt wurde. Nach dem Filtrieren wurde sie in 95%igem Alkohol gelöst, mit Wasser gefällt und mit Aceton behandelt.

Erhalten 10,3 g = 4,12% Produkt III.

Die Lösung wurde auf 3% Säuregehalt verstärkt und 12 Stunden lang am Wasserbade bei 70° stehen gelassen. Es bildete sich eine braune Fällung, die jedoch schon wegen des großen Harzgehaltes nicht mehr verarbeitet wurde.

Eigenschaften der Zwischenprodukte. Diese Zwischenprodukte bilden das Zwischenglied zwischen dem Saponin und dem Sapogenin. Sie sind ebenfalls Glukoside, wie das Saponin, da sie mit verdünnten Säuren hydrolytisch gespalten werden, jedoch sind sie in Wasser unlöslich wie das Sapogenin. Je weniger starke Agenzien, je kürzer die Dauer der Hydrolyse bei der Darstellung, um so näher stehen die erhaltenen Produkte in ihren Eigenschaften dem Saponin: je

stärkere Agenzien einwirkten, desto mehr ähneln sie dem Sapogenin.

Sie bilden weiße, amorphe gallertartige Massen, die bei längerem Trocknen in hornartige harte Stücke übergehen. Sämtliche Krystallisierungsversuche gaben negative Resultate. Aus Acetonlösung eingedunstet, sind sie zu einem schneeweißen Pulver zerreibbar. Sie sind vollkommen geruchlos; der Geschmack ist etwas herb, der Staub greift die Schleimhäute an; jedoch bedeutend schwächer wie das Saponin.

Mit konzentrierter Schwefelsäure geben sie die Rossolische Farbenreaktion. Sie besitzen keinen Schmelzpunkt; zersetzen sich unter Gasentwicklung und teilweiser Verkohlung zwischen 170—200°. Sind ebenso wie das Saponin optisch inaktiv.

Die Löslichkeit ist je nach dem Zuckergehalt verschieden. Während einige solcher Produkte (wie I und III) aus alkoholischer Lösung in Wasser gegossen, sich sofort nahezu vollständig ausscheiden, bilden andere Zwischenprodukte, wie z. B. II, in Wasser gegossen nur eine milchige Trübung. Aus alkoholischer Lösung sind sie mit Äther nicht leicht fällbar, es gelang jedoch, das Produkt II aus alkoholischer Lösung mit ca. 10facher Menge Äther zu fällen, wenn auch nicht quantitativ.

Sie unterscheiden sich von Saponin und dem Sapogenin durch ihre leichte Löslichkeit in absolutem Alkohol, Aceton und Essigsäuremethylester. In heißem Wasser sind sie kaum löslich, sie quellen aber darin stark auf und bilden eine Gallerte, in verdünnten Laugen lösen sie sich leicht auf. In Äther, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Chloroform sind sie unlöslich. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure werden sie unter Bildung von Pentosen und Sapogeninen zersetzt.

Produkt I	gab beim Kochen mit 6% Schwefelsäure	45,69% Zucker
» II » » » »	» 6% » » » »	41,53% »
» III » » » » »	» 6% » » » »	38,57% »

Da diese Zwischenprodukte hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich, Pentosen einschließen, so wurde der Zuckergehalt auf Arabinose berechnet. Außerdem wurde der Pentose-

gehalt nach Tollens bestimmt. Die dabei erhaltene Phloroglucin-fällung war schwarz, wie es für Pentosen gefunden wird, da aber im Zuckersirup auch Methylpentose (Rhamnose) gefunden worden ist, so wurde die Trennung der Pentosen und Methylpentosen nach der Vorschrift von W. Mayer und Tollens durch Herauslösen des Methylpentosen-Phloroglucides mit Alkohol durchgeführt.

Z. B. 0,7720 g Produkt II gaben 0,2715 g Phloroglucid und nach Auflösen mit Alkohol blieb = 0,2064 g: ist also 0,0651 g Methylfurfuroolphloroglucid = 0,09293 g Rhamnose = 12,03% Rhamnose und 30,10% Arabinose.

0,5683 g Produkt III gaben 0,1986 g Phloroglucid, hiervon waren 0,0381 g Methylphloroglucid = 12,35% Rhamnose und 0,1605 g Phloroglucid = 32,13% Arabinose.

Die Sapogeninmenge betrug beim letzteren 57,15%, somit wäre das Resultat der Spaltung:

Sapogenin	57,15%
Arabinose	32,13%
Rhamnose	12,35%
	101,63%

Da bei der Hydrolyse Wasseraufnahme stattfindet, ist der Überschuß von 1,63% verständlich.

Das untersuchte, aus Sapindus-Saponin in angegebener Weise erhaltene Zwischenprodukt besteht somit ungefähr zur Hälfte aus Sapogenin, zur Hälfte aus Pentosen, von diesen Pentosen sind $\frac{2}{3}$ der Gesamtmenge Arabinose, ca. $\frac{1}{3}$ entfällt auf Rhamnose. H. Blau hat in seiner Dissertation die Vermutung ausgesprochen, daß man dieses Zwischenprodukt als einen einheitlichen Körper ansehen kann, da es gelingt, selbst bei etwas veränderten Versuchsbedingungen ein pentosehaltiges Produkt von gleicher Beschaffenheit herzustellen. Auf Grund mittlerweile von dem einen von uns (E. Winterstein) weiter fortgeführter Untersuchungen ist diese Annahme wohl kaum berechtigt. Zur Klarlegung der komplizierten Verhältnisse bedarf es noch eingehenderer Untersuchung, die allerdings infolge der Anwesenheit verschiedener Kohlenhydratkomplexe (d-Fruktose, Arabinose, Rhamnose) und vielleicht auch anderer reduzierenden

Substanzen, ferner durch die Bildung von Harzen und Sapogenin bei der hydrolytischen Spaltung des Sapindus-Saponins bedeutend erschwert werden.

Wie schon früher erwähnt wurde, gibt das Robkastanien-saponin bei der Spaltung mit 1%iger Schwefelsäure auch einen im Wasser unlöslichen Zwischenkörper, der bei weiterer Spaltung mit stärkerer Säure Glukosen (d-Glukose und Arabinose) liefert.

Dieses Zwischenprodukt ist ein hellbraunes, nicht hygroskopisches Pulver. Es ist ebenso wie das aus Sapindus-Saponin darstellbare leicht löslich in Alkohol und Aceton; die alkoholische Lösung ist leicht fällbar durch Äther. (Unterschied vom Zwischenprodukt des Sapindus-Saponins.)

Bei längerem Kochen mit 5%iger Schwefelsäure entsteht eine körnige Substanz (Äsculinsäure?) neben 21% Glukosen, davon entfallen 8,5% auf Arabinose.

0,2858 g Zwischenprodukt gaben 0,0179 g Phloroglucid = 8,1% Arabinose.

1,0346 g Zwischenprodukt gaben 0,0786 g Phloroglucid = 8,95% Arabinose. Methylpentose ist nicht vorhanden.

Das Sapogenin aus Sapindus-Saponin. Bei vielen bisherigen Untersuchungen der Saponine wurde das bei der Hydrolyse mit verdünnten Mineralsäuren entstehende unlösliche Produkt als «Sapogenin» bezeichnet. Eine Trennung des Gemisches wurde nur von wenigen Forschern versucht, die meisten begnügten sich damit, das Rohprodukt in Alkohol aufzulösen und diese Lösung wieder mit Wasser auszufällen. Auf diese Art kann jedoch das Sapogenin nicht gereinigt werden, da auch andere Nebenbestandteile ebenso wie das eigentliche Sapogenin im Alkohol löslich, im Wasser hingegen unlöslich sind.

Darstellung des reinen Sapogenins. Wie schon bei der Spaltung des Saponins angegeben ist, liefert dasselbe beim Behandeln mit Säuren ein glukosidartiges Zwischenprodukt, Zuckerarten und Harz. Da das glukosidartige Zwischenprodukt beim Erwärmen mit Säuren das Sapogenin als unlöslichen Bestandteil liefert, wobei je nach der Konzentration der zur Spaltung verwendeten Säure und der Kochdauer auch eine

harzartige Substanz in verschiedener Menge gebildet wird, welche die Reindarstellung des Sapogenins recht erschwert oder die Ausbeuten desselben stark herabdrückt, so mußte durch Versuche zunächst festgestellt werden, unter welchen Bedingungen nur geringe Mengen von diesem harzartigen Körper entstehen. Wir fanden folgenden Weg. 200 g Sapindus-Saponin wurden in 2 Liter 2% iger Schwefelsäure 2 $\frac{1}{2}$ Stunden auf dem Wasserbade digeriert: nach dem Erkalten wurde das entstandene schwach braungefärbte Produkt auf ein Koliertuch gebracht, mit heißem Wasser öfters ausgewaschen und zwischen Filtrierpapier 24 Stunden lang getrocknet. Das so erhaltene Produkt wurde in Portionen von je ca. 25 g mit 6% iger Schwefelsäure am Rückflußkühler 1 $\frac{1}{2}$ —2 Stunden lang gekocht. Nunmehr wird von der Flüssigkeit scharf abgesogen und das körnige Produkt wiederholt — bis zum Schwinden der Säurereaktion — mit Wasser ausgekocht. Man trocknet es am besten im Vakuumexsikkator oder durch gelindes Erwärmen auf 60°. Das trockene Produkt wird nun mit Aceton ausgekocht, wobei das Harz, sowie ein amorphes nicht krystallisierendes Sapogenin in Lösung gehen. Man wiederholt das Auskochen mit Aceton, bis eine weiße Masse zurückbleibt und die Acetonlösung nicht mehr dunkelbraun gefärbt ist. Der Rückstand wird in kochenden 95% igen Alkohol langsam eingetragen. Aus der alkoholischen Lösung scheidet sich beim Verdunsten des Alkohols das Sapogenin in wundervollen, makroskopisch gut sichtbaren Krystallen aus. Ausbeute = ca. 13 g = 7% vom Saponin. Aus der Acetonlösung scheiden sich beim allmählichen Verdunsten zunächst noch kleine Mengen des krystallinischen Sapogenins aus. Dann erfolgt die Ausscheidung einer geringen Menge von pentosehaltigem Zwischenglukosid; die davon getrennte Lösung enthält noch 2 Substanzen: einen dem krystallinischen Sapogenin nahestehenden Körper, den wir bis auf weiteres amorphes Sapogenin bezeichnen wollen (H. Blau nennt diese Substanz in seiner Dissertation Sapogenin β), ferner schließt die Acetonmutterlauge noch ein braungefärbtes Harz ein.

Eigenschaften des krystallinischen Sapogenins. Das aus 95% igem Alkohol auskrystallisierende Sapogenin bildet

schneeweiße glänzende große Krystalle. Nicht vollkommen reines Sapogenin scheidet sich zuweilen in wetzsteinförmigen Nadeln, zuweilen als amorphes Pulver aus. Das krystallisierte Sapogenin enthält keinen Krystallalkohol.

Der Schmelzpunkt wurde im Silbernitratbade bestimmt und beträgt für das reinste Produkt 319—320°. Es schmilzt ohne Zersetzung zu einem farblosen Öle, das bei niedriger Temperatur krystallinisch erstarrt. Auf dem Platinspatel erhitzt, verbrennt es ohne Rückstand. Das Sapogenin ist äußerst schwer löslich. Am ehesten löst es sich in absolutem und 95%igem Alkohol, sowie in Eisessig und in geschmolzenem Phenol. 1 Teil Sapogenin ist in 143 Teilen Alkohol absol. löslich. In Äther ist es nur sehr wenig löslich, ebenso in Aceton, Methyl-, Äthyl-, Amylalkohol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Toluol, Ligroin nahezu unlöslich.

In verdünnten Alkalien löst es sich allmählich auf, Säuren scheiden aus der alkalischen Lösung das Sapogenin wieder aus.

In konzentrierter Schwefelsäure löst es sich mit orangefarbener Farbe, die Lösung wird beim Erwärmen violettrot. Auch in konzentrierter Salpetersäure löst es sich mit rotbrauner Farbe auf.

Das Sapogenin gibt keine Millonsche Reaktion, in Eisessiglösung reduziert es Permanganat nicht, Bromwasser wird auch nach längerem Stehen nicht entfärbt.

Die Lösungen von Sapogenin sind optisch inaktiv.

Bei der Elementaranalyse wurden folgende Ergebnisse erhalten:

I.	0,1893 g	Substanz	gaben	0,5133 g	CO ₂	und	0,1683 g	H ₂ O
II.	0,1796	›	›	0,4791	› CO ₂	›	0,1540	› H ₂ O
III.	0,2175	›	›	0,5877	› CO ₂	›	0,1871	› H ₂ O
IV.	0,2592	›	›	0,7015	› CO ₂	›	0,2249	› H ₂ O

In 100 Teilen:

	I.	II.	III.	IV.
C	73,95	72,77	73,70	73,80
H	9,95	9,52	9,56	9,64
O	16,10	17,71	16,74	16,56

Mittel aus III. und IV.	Berechnet für $C_{18}H_{28}O_3$
C 73,75%	C 73,97%
H 9,60%	H 9,59%
O 16,65%	O 16,44%

Molekulargewichtsbestimmung. Diese Bestimmung wurde im Beckmannschen Apparat ausgeführt. Als Lösungsmittel wurde Phenol verwendet; dabei wurde 280 gefunden, für $C_{18}H_{28}O_3$ ergibt sich ein Molekulargewicht von 292.

In der Literatur sind eine Reihe von Saponinen beschrieben worden; ob es sich dabei stets um einheitliche Verbindungen handelt, erscheint zweifelhaft, da in manchen Fällen das beim Behandeln des Saponins mit verdünnter Säure sich ausscheidende amorphe Produkt ohne weitere Reinigung zur Untersuchung verwendet wurde. Das von uns erhaltene Saponin wurde bei verschiedenen Darstellungsversuchen stets von gleicher Beschaffenheit erhalten. Obgleich wir zurzeit noch nicht in der Lage sind, Angaben über dessen Konstitution zu machen, so führen wir doch einige Versuche an, die für die Konstitutionsbestimmung in Betracht kommen können.

Das von uns erhaltene Saponin ist gegen alle bekannten Indikatoren neutral. Es gelingt aber, eine Blei- und eine Kaliverbindung darzustellen.

Löst man das Saponin in absolutem Alkohol und fügt eine alkoholische Bleizuckerlösung hinzu, so scheidet sich eine amorphe Fällung aus, welche nach dem Auswaschen, Absaugen und Trocknen über Phosphorpentoxyd einen Bleigehalt von 35,6% besaß. Die Verbindung $Pb(OH) \cdot O_2C_{18}H_{27}O$ würde 40% Pb enthalten.

Die Kaliumverbindung wurde in folgender Weise dargestellt. 1 g Saponin wurde in absolutem Alkohol gelöst und eine Lösung von 0,4 g Kaliumcarbonat hinzugefügt, nach dem Eindunsten schieden sich zu Büscheln angeordnete, seiden-glänzende Krystalle aus. Eine Trennung von Kaliumcarbonat gelang nicht. Beim Erwärmen mit Wasser oder auf Zusatz von viel Wasser wird es zersetzt. Es ist leicht löslich in Wasser, verdünntem Alkohol, aus diesen Lösungen durch Aceton oder Äther fällbar.

Die Darstellung eines Monomethylderivates gelang in folgender Weise: 2 g Sapogenin wurden in 15 ccm Methylalkohol suspendiert und mit methylalkoholischer Natronlauge in Lösung gebracht: zu dieser Lösung wurden 60 Tropfen Dimethylsulfat hinzugefügt und eine Stunde zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde in viel Wasser gegossen, wobei sich weiße Flocken ausschieden, welche auf ein Filter gesammelt, ausgewaschen und sodann in Äther gelöst wurden. Die ätherische Lösung wurde nun wiederholt mit Wasser geschüttelt, der Äther verdunstet und der Rückstand aus Methylalkohol umkrystallisiert. Es wurden 1,6 g = 71,4% der Theorie erhalten.

Das Methylsapogenin bildet weiße feine Nadeln vom Schmelzpunkt 204—205°. Es ist leicht löslich in Äthylmethylalkohol, Äther, Chloroform: ziemlich leicht löslich in Benzol und Aceton; unlöslich in Petroläther und auch im Wasser.

Bei der Elementaranalyse wurden folgende Werte erhalten:

I 0,2384 g Substanz gaben 0,6494 g CO₂ und 0,2147 g H₂O, daraus berechnet sich 74,29% C und 10,03% H.

II 0,1678 g Substanz gaben 0,4579 g CO₂ und 0,1506 g H₂O, dies entspricht einem Gehalt von 74,43% C und 9,95% H.

Im Mittel

74,36% C

9,99% H

C₁₈H₂₇O₃CH₃ verlangt:

74,51% C

9,80% H.

Das erhaltene Methylderivat ist also ein Monomethylsapogenin. Trotz veränderter Versuchsbedingungen war es nicht gelungen, ein höher methyliertes Produkt darzustellen. Brandl gibt an, daß er durch Methylieren des aus dem Agrostemma Githago darstellbaren Sapogenins Mono- bis Hexamethylsapogenine erhalten hat.

Acetyl-Sapogenin. 1,2 g Sapogenin wurden mit 7 g Essigsäureanhydrid und einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure 4 Stunden lang im Ölbad auf 134° erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde nach dem Erkalten in mit Salzsäure angesäuertes Wasser gegossen, das dabei ausgeschiedene Produkt war nach 12 Stunden zu einem harten Kuchen erstarrt, dieser wurde in 95%igem Alkohol gelöst, die Lösung mit Tierkohle gekocht

¹⁾ Archiv f. experiment. Pathol. und Pharmak., Bd. 59, S. 245.

und die nun entstandene farblose Lösung in kaltes Wasser gegossen. Es wurden 1,2 g Substanz erhalten.

Das Acetylsapogenin krystallisiert aus Methylalkohol in Form feiner mikroskopischer Nadeln vom Schmelzpunkt 155° ; es ist leicht löslich in Methyl-, Äthylalkohol, Äther, Chloroform, Benzol und Aceton und auch gut löslich in Petroläther.

Bei zweistündigem Kochen mit $n/2$ -Natronlauge wird es gespalten, wobei im Mittel aus drei Versuchen 20,9% Essigsäure — berechnet aus den Mengen der nach dem Zurücktitrieren verbrauchten Lauge — abgespalten wurden. Die Theorie verlangt 17,9% Essigsäure, die Differenz ist wohl darauf zurückzuführen, daß das entstandene Sapogenin etwas Alkali bindet.

Erhitzt man das Sapogenin bei 15 mm Vakuum auf 200° , so entsteht ein hellgelbes Öl, neben einer geringen Menge eines Sublimats. Das Öl erstarrt zu einer durchsichtigen, hellgelben, glasartigen Masse. Alle Versuche, daraus ein krystallinisches Produkt darzustellen, waren erfolglos.

Erhitzt man das Sapogenin mit Zinkstaub, so entsteht ein farbloses Gas und ein schwach gelbgefärbtes nahezu sauerstoffreies Öl.

Die Destillation über Zinkstaub wurde in folgender Weise ausgeführt: In eine Verbrennungsröhre wurde eine ca. 10 cm lange Schicht von Zinkstaub eingefüllt; auf diese folgte eine 30 cm lange Schicht eines innigen Gemisches von Zinkstaub und 10 g Sapogenin, diese Schicht wurde durch eine 23 cm lange Schicht vom Bimsstein-Zinkstaub abgeschlossen. Die Luft wurde zuvor durch Kohlensäure verdrängt und dann die Bimsstein-Zinkstaubschicht zu schwacher Rotglut und sodann die weiteren Schichten mäßig erwärmt. Das entweichende Gas wurde mit stark gekühlter wässriger Lösung von Brom absorbiert. Im vorderen Teil des Rohres hatten sich 6 g eines dicken Öles angesammelt, das letztere wurde durch Äther herausgelöst und nach dem Verdunsten des Äthers der Destillation unterworfen. Fraktion I ging zwischen 230 — 260° über, eine zweite Fraktion wurde bei 280 — 310° aufgesammelt. Fraktion I ist ein hellgelbes, leicht bewegliches Öl, mischbar mit Äther, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Eisessig, Ligroin, Benzol, auch

in Alkohol ist es löslich. Es erstarrt nicht in einer Eis-Kochsalzmischung.

Bei der Elementaranalyse wurden folgende Werte erhalten:

I 0,2201 g Substanz gaben 0,7128 g CO_2 und 0,2015 g H_2O = 88,32% C und 10,18% H.

II 0,1910 g Substanz gaben 0,6168 g CO_2 und 0,1733 g H_2O = 88,06% C und 10,10% H.

Im Mittel also 88,19% C und 10,14% H.

Fraktion II ist ein grünes, schwach fluorescierendes, schwer bewegliches Öl, welches sich in den oben genannten Lösungsmitteln ebenfalls leicht auflöst; es erstarrt in einer Eis-Kochsalzmischung vollkommen.

Bei der Analyse wurden folgende Werte erhalten:

I 0,2084 g Substanz gaben 0,6804 g CO_2 und 0,1821 g H_2O = 89,06% C und 9,69% H.

II 0,2176 g Substanz gaben 0,7124 g CO_2 und 0,1896 g H_2O = 89,29% C und 9,69% H.

Im Mittel 89,17% C und 9,69% H.

Trotzdem die analysierten Öle vielleicht noch kleine Mengen Sauerstoff enthielten, darf man wohl behaupten, daß der allergrößte Teil der bei der Zinkstaubdestillation gebildeten Öle aus Kohlenwasserstoffen bestand.

Die Öle zeigen folgendes Verhalten: Bei längerem Stehen an der Luft werden sie dunkler, sie färben sich mit konzentrierter Schwefelsäure weinrot, von konzentrierter Salpetersäure werden sie in der Kälte nicht angegriffen, sie absorbieren Brom unter Bildung von öligen Produkten. Von Chromsäure werden sie nur sehr langsam angegriffen.

Das bei der Destillation gebildete Gas lieferte eine Bromverbindung, welche in folgender Weise gewonnen wurde. Die noch bromhaltige Flüssigkeit wurde mit verdünnter kalter Sodalösung geschüttelt und die Lösung sodann ausgeäthert. Die erhaltene ätherische Lösung wurde noch einige Male mit verdünnter Sodalösung behandelt, dann mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion ausgewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein

eigentümlich riechendes Öl, welches durch Aufbewahren im Vakuumexsikkator vom Äther vollständig befreit wurde.

Eine Brombestimmung gab folgendes Resultat.

0,0765 g Substanz lieferten 0,1255 g AgBr = 0,0534 g Br. Die Verbindung $C_4H_8Br_2$ würde 0,0566 g Brom enthalten. Es ist also nicht ausgeschlossen, daß bei der Zinkstaubdestillation des Sapogenins neben den erwähnten Ölen Butylen entsteht.

Das reine Sapogenin erhält man aus dem Saponin in einer Ausbeute von höchstens 7 % und die Darstellung desselben ist recht zeitraubend. Auf Grund der bis jetzt gewonnenen Ergebnisse läßt sich über die Konstitution noch nichts aussagen. Wir hoffen aber nach Beschaffung größerer Mengen des nicht leicht zugänglichen Sapogenins einigen Aufschluß darüber zu gewinnen.

Das Sapogenin des Robkastiensaponins. Dieses Saponin wurde durch 1½ständiges Kochen des pentosehaltigen Zwischenproduktes mit 6 % iger Schwefelsäure gewonnen. Wir erhielten ein hellbraunes, amorphes Pulver, welches sich in kaltem 95 % igem Alkohol leicht auflöste, in der Wärme löste es sich auch in verdünntem Alkohol, in Aceton und in Äther ist es fast unlöslich. Weitere Versuche haben wir mit dem uns nur in geringer Menge zur Verfügung stehenden Material nicht angestellt.

Über die aus Sapindus-Saponin entstehenden Kohlenhydrate.

Die Reindarstellung der Glukosen hat uns viel Schwierigkeiten bereitet und die Menge der isolierten Glukosen blieb weit hinter derjenigen zurück, die sich aus der abgeschiedenen Menge Kupferoxydul, die bei der Reduktion der Fehlingschen Lösung oder aus der Menge Furfurol, die durch Destillation mit Salzsäure nach dem Verfahren von Tollens gebildet wird, berechnen läßt. Wir erhielten nach dem Auskrystallisieren der einzelnen Glukosen große Quantitäten Sirup, welcher noch viel Pentosen einschloß; es ist daher wohl möglich, daß neben den zu erwähnenden Zuckerarten noch andere vorhanden sind, die sich bisher des sicheren Nachweises entziehen. In Fortsetzung der Untersuchung hat der eine von uns (E. W.) Beobachtungen gemacht, die diese Annahme höchst wahrscheinlich machen.

Die Anwesenheit von d-Galaktose ist ausgeschlossen, da wir bei Oxydation größerer Mengen von bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure enthaltenen Sirupen mit Salpetersäure keine Schleimsäure erhalten konnten: da wir daneben auch vergebens auf Zuckersäure geprüft haben, so ist die Anwesenheit von d-Glukose auch nicht sehr wahrscheinlich.

Im folgenden beschreiben wir, in welcher Weise die einzelnen Glukosen nachgewiesen bzw. isoliert wurden.

Nachweis der Fruktose. Spaltet man das Sapindus-Saponin mit starker Säure in der Hitze, so erhält man dunkelbraun gefärbte Sirupe, aus welchen die d-Fruktose nicht abgeschieden werden kann. Hingegen wird durch ganz schwache Säuren, wie auf Seite 416 angegeben ist, ein Zucker abgespalten, der ein bei 205° schmelzendes Osazon liefert und die Seliwanoffsche Fruktose-Reaktion gibt. Um den sicheren Nachweis zu erbringen, daß in der Tat Fruktose vorliegt, verfahren wir wie folgt: 50 g Saponin wurden in 500 ccm $\frac{1}{10}$ % Schwefelsäure gelöst und die Lösung eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, bis eben die Abscheidung des pentosehaltigen Zwischenproduktes erfolgte. Die Lösung wurde nun zum Sieden erhitzt, mit alkalifreiem Baryumhydroxyd genau neutralisiert und die vom Baryumsulfat getrennte Lösung der Dialyse unterworfen, um noch unverändertes Saponin vom gebildeten Zucker zu trennen. Das Dialysat wurde alle 2—3 Stunden gewechselt, bis mit Fehlingscher Lösung kein Zucker mehr nachweisbar war. Die gesammelten Dialysate wurden in großen flachen Porzellanschalen bei niedrigerer Temperatur eingedunstet. Der Rückstand war ein hellbrauner Sirup, der, in 95 % igem Alkohol gelöst, mit gleichem Volumen Äther versetzt, 24 Stunden lang bedeckt stehen gelassen wurde.

Die filtrierte Äther-Alkohollösung wurde auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedunstet. Die letzten Alkoholreste wurden im Vakuumexsikkator entfernt. Es hinterblieb ein heller Sirup, der süß schmeckt, die Pinoffsche, Piriasche Seliwanoffsche Fruktose-Reaktionen gab, jedoch nicht zum Krystallisieren zu bringen war.

Zur Polarisation wurde der Sirup in ca. 25 ccm Wasser

gelöst, etwas Alkohol und Tierkohle zugesetzt und die Lösung drei Tage lang stehen gelassen. Nachher wurde von der Tierkohle abfiltriert und die nunmehr farblose Lösung im 200 mm-Rohr polarisiert. Die Menge des Zuckers wurde nach Fehling-Allihns Kupfermethode bestimmt.

Die Lösung drehte -3° . S. V. Die quantitative Zuckerbestimmung ergab 0,54% Zucker.

$$(\alpha)_D = \frac{3 \cdot 0,344 \cdot 100}{0,54 \cdot 2} = -95,5^{\circ} \text{ (Fruktose dreht } -90^{\circ} \text{ bis } -100^{\circ}).$$

Aus dieser Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes, dem Schmelzpunkt des Osazons, sowie den oben angeführten Reaktionen ist die Anwesenheit der Fruktose unter den Spaltungsprodukten als erwiesen zu betrachten.

Darstellung der Rhamnose. Die Rhamnose ist diejenige Glukose, welche wegen ihrer großen Krystallisationsfähigkeit am leichtesten in größeren Mengen aus dem Sapindus-Saponin darstellbar ist. Das Vorhandensein dieser Glukose ist bisher übersehen worden. Bei der Destillation des Saponins mit Salzsäure nach dem Verfahren von Tollens und Fällen des Destillats mit Phloroglucin erhält man wegen der Anwesenheit der großen Mengen — aus Arabinose entstehenden — Furfurols eine grün-schwarze Fällung, welche die kupferrote Färbung des Methylphloroglucids verdeckt.

Die Darstellung der Rhamnose geschah in folgender Weise. Wir benützten die bei den verschiedenen Vorversuchen durch Kochen mit Schwefelsäure verschiedener Konzentration erhaltenen Sirupe: sie wurden in möglichst wenig Alkohol gelöst und diese Lösung wurde nun mit soviel Alkohol abs. versetzt, bis nur noch eine schwache Trübung auftrat. Aus der Flüssigkeit scheidet sich, nach 2stündigem Stehen, eine amorphe schwarze harzartige Masse aus. Die davon getrennte klare Flüssigkeit wird mit ungefähr gleichem Volumen Äther versetzt, wobei sich ein brauner Sirup ausscheidet, der nach 24stündigem Stehen fest wird. Die von letzterem getrennte Lösung wird durch Destillation von Äther vollständig und von Äthylalkohol nur teilweise befreit und im Exikkator zur freien Verdunstung hingestellt. Schon nach einigen Tagen beginnt die Krystalli-

sation. Durch einmaliges Umkrystallisieren aus Alkohol erhielten wir den Zucker in farblosen wunderschönen großen charakteristischen Krystallen. 200 g Saponin gaben ca. 25 g rohe Rhamnose.

Mit Phenylhydrazin wurde ein Osazon von gelben verfilzten Nadeln erhalten, die bei 180° schmolzen.

Beim Abdestillieren einer Zuckerlösung mit HCl vom spezifischen Gewicht 1,06 gibt das Destillat auf Anilinacetatpapier nicht eine rote, sondern eine mehr gelbe Farbe. Dieses Destillat gibt beim Füllen mit Phloroglucin das schöne feuerrote Methylfurfurolphloroglucid.

Zum Polarisieren wurde 1,9812 g Zucker in 20 ccm H₂O bei 17° gelöst. Diese Lösung drehte im 200 mm-Rohr + 4,8° S. V. Es wurde beobachtet, daß nach Einbringen des Polarisationsrohres in den Polarisationsapparat die Drehung in den ersten Minuten gleich Null war und erst nach einiger Zeit die oben angegebene konstante Drehung auftrat. Es ist dies auch eine charakteristische Eigenschaft der Rhamnose.

$$[\alpha]_D = \frac{4,8 \cdot 0,344 \cdot 100}{9,906 \cdot 2} = + 8,3^\circ$$

Darstellung der Arabinose. Durch eine Reihe von Vorversuchen hatten wir zunächst festgestellt, daß die Arabinose derjenige Zucker ist, welcher am schwersten abspaltbar ist, und daß die Hauptmenge in dem unlöslichen pentosehaltigen Zwischenprodukt enthalten ist. Wir stellten uns daher zunächst eine größere Menge des letzteren dar, indem wir Saponin längere Zeit mit 2- bzw. 5%iger Säure stehen ließen, die dabei gebildete Ausscheidung wurde auf ein Filter gesammelt, sorgfältig mit Wasser ausgewaschen, der Rückstand mit der 20fachen Menge 6%iger Schwefelsäure verrieben und am Rückflußkühler 3 Stunden gekocht. Nach dem Abfiltrieren vom Sapogenin wurde das Filtrat in der Siedehitze mit alkalifreiem Baryt neutralisiert, filtriert und bei niedriger Temperatur in flachen Schalen auf dem Wasserbade eingedunstet. Der hinterbleibende hellbraune Rückstand wurde in 95%igem Alkohol gelöst, wobei ein wenig braune Schmiere zurückblieb. Die alkoholische Lösung wurde im Vakuum über Schwefelsäure stehen gelassen, wobei bald — bei konzentrierten Lösungen schon nach wenigen Stunden

— die Arabinose in strahlenförmig geordneten Nadelchen auskrystallisierte. Die Mutterlauge gab nach mehrwöchentlichem Stehen eine zweite Krystallfraktion, die als Rhamnose identifizierbar war.

Die erste Krystallfraktion gibt sämtliche Pentosenreaktionen, wie die Phloroglucin-Salzsäure und Bialsche Orcinreaktion. Mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,06 abdestilliert, gab sie eine schwarze Fällung von Furfurophloroglucid, die in Alkohol unlöslich war.

0,2646 g des Zuckers in 5 ccm Wasser drehten im 100 mm-Rohr + 13,9° S. V.

$$[\alpha]_D = \frac{13,9 \cdot 0,344 \cdot 100}{5,292 \cdot 1} = + 90,3^\circ.$$

Nach einmaligem Umkrystallisieren aus 95%igem Alkohol: 0,5576 g des Zuckers in 10 ccm Wasser drehten im 200 mm-Rohr + 32° S. V.

$$[\alpha]_D = \frac{32 \cdot 0,344 \cdot 100}{5,576 \cdot 2} = + 98,7^\circ.$$

Arabinose verlangt + 96 bis + 106°.

Die Darstellung der Arabinose gelingt auch in folgender Weise, wobei es nicht notwendig ist, die pentosehaltigen Zwischenprodukte besonders zu reinigen. Wir benützten die bei verschiedenen Versuchen durch Erwärmen mit verdünnter (2- bis 6%iger) Schwefelsäure gebildeten unlöslichen Zwischenprodukte, kochten sie mit 6%iger Schwefelsäure am Rückflußkühler 3 Stunden, entfernten die Säure mit Baryumhydroxyd, dunsteten zum Sirup ein und extrahierten den letzteren mit heißem Alkohol. Nach Entfernen des Alkohols resultierten wenig gefärbte Sirupe, in welchen wir entweder den Zukergehalt nach Allihn ermittelten oder den Pentosegehalt nach Tollens durch Destillation mit Salzsäure bestimmten. Da nun diese Sirupe hauptsächlich aus Pentosen bestanden, so gelang die Abscheidung der Arabinose mit Hilfe von Benzylphenylhydrazin nach der Methode von Ruff und Ollendorf.

7 g Sirup, welcher 5 g Arabinose enthielt, wurden mit 5 g Benzylphenylhydrazin in der Kälte versetzt. Schon nach kurzer Zeit schied sich das Hydrazon aus. Nach dreistündigem

Stehen wurde die Flüssigkeit von den Krystallen abgesaugt, diese aus wenig absolutem Alkohol umkrystallisiert. Die erhaltenen weißen Krystalle schmolzen bei 171° . Hiervon wurden 2,6 g in 10 ccm 35%iger Formaldehydlösung gelöst, die Flüssigkeit eine halbe Stunde erwärmt und das gebildete Formaldehydbenzolphenylhydrazon durch Ausäthern entfernt. Die Lösung wurde nun bei gelinder Temperatur wiederholt unter Wasserzusatz eingedunstet, bis aller überschüssiger Formaldehyd ausgetrieben war. Der erhaltene Sirup wurde aus Alkohol umkrystallisiert; er lieferte schon nach einigen Stunden Krystalle. Diese Krystalle geben die bekannten Pentosereaktionen.

0,5127 g Substanz in 5 ccm Wasser gelöst zeigten im 100 mm-Rohr im Soleil-Ventzkeschen Apparat eine Drehung von $+ 29^{\circ}$. Daraus berechnet sich ein spezifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = + 97,6^{\circ}$.

Die Ausbeuten an Glukosen bleiben, wie gesagt, weit gegenüber den durch die Analyse bestimmbaren Mengen zurück, da die einzelnen Glukosen eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegenüber Säuren besitzen und die einzelnen Kohlenhydratkomplexe nicht alle gleichzeitig abgespalten werden, ferner kennen wir zurzeit noch keine Methoden zur Trennung der einzelnen Zuckerarten. Wie erwähnt, wird die durch Säuren leicht zerstörbare Fruktose zuerst abgespalten.

Bei einer quantitativen Bestimmung des Pentosegehaltes und der Gesamtzuckerausbeute erhielten wir folgende Ergebnisse:

I. 0,7644 g wasserfreies Saponin gaben 0,1794 g Phloroglucid = 0,2029 g oder 26,55% Arabinose.

II. 1,263 g Saponin gaben 0,298 g Phloroglucid = 0,3313 g oder 26,23% Arabinose.

III. 1,234 g Saponin lieferten 0,292 g Phloroglucid = 0,3247 g oder 26,31% Arabinose.

Aus einer großen Anzahl unter verschiedenen Versuchsbedingungen ausgeführten Spaltungsversuchen ergab sich im Mittel ein Glukosegehalt von 60%. Zieht man davon den mittleren Gehalt von Pentose (Arabinose) ab, so hinterbleibt für die Hexose (d-Fruktose) 33,7% übrig. Diese Zahlen können nur einen angenäherten Aufschluß über die Quantitäten der im

Sapindus-Saponin enthaltenen Kohlenhydrate geben, da das Reduktionsvermögen der einzelnen Glukosen ein verschiedenes ist: ferner kommt noch in Betracht, daß nicht nur eine Pentose, sondern auch Methylpentose im Saponin vorkommt.

Die Glukosen des Roßkastaniensaponins. Es gelang, mit Hilfe von Benzylphenylhydrazin aus dem bei der Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure entstandenen Sirup Arabinose zur Abscheidung zu bringen. Außerdem gelang der Nachweis von d-Glukose in folgender Weise. Das Saponin wurde mit schwacher Säure in der Hitze gespalten, die vom ausgeschiedenen Zwischenprodukt getrennte saure Lösung wurde mit Hilfe von Baryt von der Säure befreit und die neutrale Lösung auf dem Wasserbade eingedunstet. Der zurückbleibende Sirup wurde in 95%igem Alkohol gelöst und nach dem Erkalten von der ausgeschiedenen schwarzen Schmiere dekantiert. Nun wurde mit Alkohol absol. versetzt, bis keine weitere Fällung entstand. Nach 24 Stunden wurde von rotbraunem Sirup abgegossen und die Lösung mit gleichen Volumen Äther gefällt. Diese Fällung, welche in einigen Stunden zu einer festen, fadenziehenden, hellgelben Masse erstarrte, wurde in 95%igem Alkohol gelöst, auf kleines Volumen konzentriert und mit absolutem Alkohol angerieben. Es schieden sich allmählich Kristalle aus und schließlich erstarrte die ganze Masse zu einem Krystallbrei. Dieser gibt keine Fruktosereaktionen, dreht das polarisierte Licht nach rechts und gibt ein Osazon vom Schmelzpunkt 205°, ist also d-Glukose.

0,3037 g in 25 ccm H₂O gelöst drehten das polarisierte Licht im 200 mm-Rohr + 3,5° S. V.

$$\alpha_D = \frac{3,5 \cdot 0,344 \cdot 100}{1,2148 \cdot 2} = + 49,5^\circ.$$

d-Glukose verlangt + 52,5°.

Die ätheralkoholische Lösung wurde vom Äther und einem Teil des Alkohols durch Abdestillieren befreit und ebenfalls der freien Verdunstung überlassen. Nach mehrwöchentlichem Stehen bildete sich ein farbloser Sirup, der nicht krystallisationsfähig war. Er gab sämtliche Fruktosereaktionen, drehte das polari-

sierte Licht nach links, gab mit Phenylhydrazin ein Osazon vom Schmelzpunkt 206°.

Um den vollkommenen Beweis zu liefern, daß der Zucker Fruktose ist, wurde versucht, das für die Fruktose charakteristische Methylphenylhydrazon nach Neuberg darzustellen.

Der Sirup, der 0,5 g Zucker enthielt, wurden in 5 ccm Wasser gelöst und mit 1,2 g Methylphenylhydrazin versetzt und soviel Alkohol, bis klare Mischung eintrat. Sodann wurden 4 ccm 50% ige Essigsäure zugegeben und das Gemisch 5 Minuten lang am Wasserbade erwärmt. Nach Verlauf von 2—3 Stunden begann die Ausscheidung von rotgelben Nadeln und nach 12 Stunden erstarrte die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol schmolzen sie bei 157°.

Dieser Zucker ist also Fruktose.

Zusammenfassung der Resultate.

Das aus *Sapindus utilis*¹⁾ darstellbare Saponin liefert bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure d-Fruktose, Arabinose und Rhamnose; d-Glukose entsteht dabei wahrscheinlich nicht, Galaktose wird bei der Hydrolyse nicht gebildet. Die d-Fruktose wird schon durch ganz verdünnte Mineralsäuren, auch schon in der Kälte abgespalten, wobei nur eine geringe Menge eines unlöslichen Zwischenproduktes gebildet wird.

Bei langandauernder Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure in der Kälte entsteht ein amorphes Produkt, welches bei weiterer Spaltung mit stärkerer Säure in der Hitze Arabinose und Rhamnose liefert. Diese von uns als pentosehaltiges Zwischenprodukt von H. Blau als «Pentosid» bezeichnete Substanz gehört noch in die Gruppe der Glukoside.²⁾ Diese Substanz unterscheidet sich vom Saponin durch ihre Unlöslichkeit in Wasser und durch leichte Löslichkeit in Alkohol. Bei der Spaltung dieser Zwischenprodukte mit stärkeren Säuren entsteht neben Arabinose und Rhamnose eine krystallinische Ver-

¹⁾ Vgl. Seite 411.

²⁾ R. Kobert nennt die primär entstehenden Produkte sekundäre Glukoside oder Anfangsapogonine. Biochem. Handlexikon., Bd. 7. S. 149.

bindung, welcher wir bis auf weiteres die Formel $C_{18}H_{28}O_3$ zuerteilen. Diese Verbindung ist das eigentliche Sapogenin: es liefert bei der Zinkstaubdestillation hochmolekulare Kohlenwasserstoffe, daneben ein Gas, das wahrscheinlich zum Teil aus Butylen besteht.

Das Sapogenin gibt eine Monomethyl- und Monoacetylverbindung.

Die bei der Hydrolyse mit Säuren auftretenden unlöslichen Produkte können nicht als einheitliche Verbindungen angesehen werden; man erhält daraus das Sapogenin erst nach einer Reihe von Prozeduren.

Beim Acetylieren wird das Saponin in seinem chemischen Bau und in seiner physiologischen Wirkung stark verändert.

Das Robkastiensaponin liefert neben einem Sapogenin Arabinose, d-Glukose und d-Fruktose.