

82. K. Rehorst: Über das Saponin der Zuckerrübe.

[Aus d. Institut für Biochemie u. Landwirtschaftl. Technologie d. Universität Breslau.]

(Eingegangen am 21. Januar 1929.)

Das Saponin der Zuckerrübe ist häufig Gegenstand chemischer Untersuchungen gewesen, die zumeist im Hinblick auf das technische Interesse an dieser Substanz im Verlaufe der Zuckerfabrikation unternommen wurden¹⁾.

A. Kollrepp²⁾ isolierte im Jahre 1888 aus dem Saturationsschlamm von Zuckerfabriken eine Substanz mit dem Schmp. 290⁰, die er für ein Isomeres des Cholesterins ansprach. Derselbe Körper wurde von K. Andrlík und E. Votoček³⁾ aus dem Diffusionsaft der Rüben direkt und aus Ablagerungen und Schaumbildungen, die sich bei der Diffusion und Saturation der Säfte ergeben hatten, dargestellt. Sie fanden seinen Schmelzpunkt zu 300⁰ und gaben ihm die Formel $C_{22}H_{36}O_2 + H_2O$. Die spezif. Drehung der wasser-freien Substanz wurde zu $[\alpha]_D = +78.8^0$ ermittelt. Der Körper zeigte deutlich sauren Charakter, gab mit Essigsäure-anhydrid und konz. Schwefelsäure eine rotviolette Farbreaktion. Schon K. Andrlík⁴⁾ erkannte, daß die von ihm Rübenharzsäure genannte Substanz im Ausgangsmaterial nur zum Teil frei vorlag und erst durch Erhitzen mit Salzsäure aus einem höhermolekularen Körper abgespalten wurde, wobei reduzierende Substanzen entstanden. K. Smolenski⁵⁾ gelang es dann, die Muttersubstanz der Rübenharzsäure, einen Körper vom Schmp. 214–216⁰ und $[\alpha]_D = +24.9^0$, aus den bei der Vorwärmung des Diffusionsaftes sich ausscheidenden Niederschlägen zu isolieren. Er fand, daß bei der Spaltung neben 60–65% Rübenharzsäure 20–25% eines die Tollenssche Naphthoresorcin-Reaktion gebenden Kohlenhydrates entstehen, das von ihm ohne nähere Untersuchung willkürlich als *d*-Glykuronsäure angesprochen wurde. Smolenski übernahm die von Andrlík aufgestellte Formel der Rübenharzsäure und gab dem „Glykuronoid“ die Formel $C_{28}H_{44}O_8$. Die angegebene Titration steht allerdings mit dieser Formel nicht in Einklang. Die Spaltung sollte nach der Gleichung verlaufen: $C_{28}H_{44}O_8 + H_2O = C_{22}H_{36}O_2 + C_6H_{10}O_7$.

R. Kobert⁶⁾ isolierte aus Blättern, Knollen und Samen der Futter- und Zuckerrübe zwei Saponine, ein neutrales und ein saures, und erkannte, daß letzteres mit dem von Smolenski dargestellten Glykuronoid der Rübenharzsäure identisch ist. Anscheinend ohne experimentelle Nachprüfung übernahm Kobert Formel und Spaltungsgleichung von Smolenski. Aus dem neutralen Saponin soll nach Kobert Rübenharzsäure nicht zu erhalten sein; auch *d*-Glykuronsäure ist darin durch die Naphthoresorcin-Reaktion

¹⁾ O. Wohryzek, Chemie d. Zuckerindustrie, Springer, Berlin 1928.

²⁾ A. Kollrepp, Ztschr. Ver. Deutsch. Zuckerind. **38**, 772 [1888]; C. **1888**, 1316.

³⁾ K. Andrlík und E. Votoček, Ztschr. Zuckerind. Böhmen **22**, 248 [1897/98]; Ber. Vers.-Stat. Zuckerind. in Prag II, **1898**, 11; Neue Rüben-Ind. **40**, 39 [1898]; C. **1898**, I 621.

⁴⁾ K. Andrlík, Ztschr. Zuckerind. Böhmen **23**, 25 [1898/99]; Ber. Vers.-Stat. Zuckerind. in Prag III, **1899**, 1.

⁵⁾ K. Smolenski, Ztschr. physiol. Chem. **71**, 266 [1911].

⁶⁾ R. Kobert, Sitzungsber. u. Abhandl. Naturforsch. Ges. Rostock **5**, 1913; C. **1914**, I 1962; Ztschr. Ver. Deutsch. Zuckerind. **64**, 381 [1914]; Neue Beiträge zur Kenntnis der Saponin-Substanzen, Enke, Stuttgart 1916, S. 126–159.

nicht nachweisbar. Es folgen einige mehr vom technologischen und forensischen Standpunkte aus unternommene Arbeiten⁷⁾, bei denen eine Veranlassung, die bisher geltende Saponin-Formel nachzuprüfen, nicht vorlag, und in denen daher die von Smolenski zuerst aufgestellte Spaltungsgleichung beibehalten wurde.

In die Zwischenzeit fielen die grundlegenden Untersuchungen von F. Ehrlich⁸⁾ über Bau und Zusammensetzung der pflanzlichen Pektinstoffe. In diesen wurde bekanntlich als Hauptbestandteil ein Isomeres der *d*-Glykuronsäure, die ebenfalls die Naphthoresorcin-Reaktion gebende *d*-Galakturonsäure, ermittelt und bei der Spaltung der Pektinstoffe krystallinisch erhalten. Natürlich lag der Gedanke nahe, daß in einer Reihe von pflanzlichen Stoffen, bei deren lediglich aus dem positiven Ausfall der Naphthoresorcin-Reaktion heraus auf das Vorhandensein von *d*-Glykuronsäure geschlossen worden war, nicht diese, sondern die neuentdeckte *d*-Galakturonsäure vorlag. Einer Nachprüfung durch F. Ehrlich und K. Rehorst⁹⁾ wurde u. a. das Rüben-Saponin unterzogen, aus dem als einziger Kohlenhydrat-Bestandteil eine einbasische Säure, zunächst als amorphes Bariumsalz von der spezif. Drehung $[\alpha]_D = +16.8^0$, isoliert werden konnte. Der Bariumgehalt stimmte auf die Formel $C_{12}H_{18}O_{14}Ba$; die spezif. Drehung des Salzes schließt *d*-Galakturonsäure aus, für deren Bariumsalz von F. Ehrlich und R. v. Sommerfeld¹⁰⁾ $[\alpha]_D = +32.6^0$ ermittelt war. Aus dem Bariumsalz wurde eine krystallisierte einbasische Säure von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_7$, dem Schmp. 154^0 und der spezif. Drehung $[\alpha]_D = +12^0$ bis $+36.3^0$ freigemacht, die Fehlingsche Lösung stark reduzierte und sehr deutlich die Naphthoresorcin-Reaktion gab. Dieser Befund war zunächst überraschend, da die *d*-Glykuronsäure bis dahin nur in Form des Lactons, des *d*-Glykurons, $C_6H_8O_6$, krystallisiert erhalten war. Da jedoch die Oxydation mit Brom in der Kälte rechtsdrehende Zuckerlactonsäure lieferte, während keine Spur von Schleimsäure gefunden werden konnte, schien es erwiesen, daß hier die bis dahin unbekannte freie Form der *d*-Glykuronsäure vorliegen mußte. In der Tat gelang es, die Beweiskette hierfür dadurch zu schließen, daß sich die krystallisierte Säure durch Erhitzen mit Wasser in das *d*-Glykuron von den bekannten Eigenschaften überführen ließ. Später gelang es dann F. Ehrlich und K. Rehorst⁹⁾, mit Hilfe der Spaltung von Menthol-glykuronsäure eine Methode auszuarbeiten, die es ermöglichte, in bequemer Weise und mit guten Ausbeuten krystallisierte *d*-Glykuronsäure von genau den gleichen Eigenschaften, wie die aus dem Rüben-Saponin isolierte, zu gewinnen. Eigentümlich erscheint, daß in beiden Fällen die *d*-Glykuronsäure aufsteigende Mutarotation aufweist, demnach also nach der Nomenklatur von Hudson, Armstrong, Tollens

7) F. Schulz, Ztschr. Zuckerind. Böhmen **41**, 3 [1916/17]; K. Andrlík, ebenda, **41**, 343, 531 [1916/17]; Ber. Vers.-Stat. Zuckerind. in Prag XXI, **1916**, 105, 119; A. Traegel, Ztschr. Ver. Deutsch. Zuckerind. **70**, 449 [1920].

8) F. Ehrlich, Chem.-Ztg. **35**, 661 [1911], **41**, 197 [1917]; Deutsch. Zuckerind. **49**, 1046 [1924]; C. **1924**, II 2797. — F. Ehrlich und R. v. Sommerfeld, Biochem. Ztschr. **168**, 263 [1926]. — F. Ehrlich und F. Schubert, ebenda **169**, 13 [1926]. — F. Ehrlich, Ztschr. angew. Chem. **1927**, 1305.

9) F. Ehrlich und K. Rehorst, B. **58**, 1889 [1925].

10) F. Ehrlich und R. v. Sommerfeld, Biochem. Ztschr. **168**, 321 [1926].

und anderen¹¹⁾ in der β -Form vorliegt. Mit der Entdeckung der *d*-Glykuronsäure als Bestandteil des Rüben-Saponins war gleichzeitig auch die erste Reindarstellung der krystallisierten *d*-Glykuronsäure aus Pflanzenmaterial geglückt, nachdem Tschirch und Mitarbeiter¹²⁾ zuvor aus Glycyrrhizin das krystallisierte *d*-Glykuron erhalten hatten. Angesichts der besonders günstigen Krystallisationsfähigkeit sowohl der *d*-Glykuronsäure wie der *d*-Galakturonsäure dürfte es sich in Zukunft empfehlen, bei dem Nachweis dieser beiden Urnsäuren in Naturprodukten sich nicht allein auf Farbreaktionen und qualitative Proben zu verlassen, sondern stets auf die Gewinnung und Reindarstellung dieser gut charakterisierten freien Säuren hinzuwirken.

Über das Aglykon des Rüben-Saponins, die Rübenharzsäure, sind erst in neuester Zeit eingehende Untersuchungen von van der Haar¹³⁾ unternommen worden. Er konnte aus dem Schaum der Absatzgruben von Zuckerfabriken zwei Saponine, beide mit saurem Charakter, isolieren, die beide dasselbe Sapogenin, nämlich die Rübenharzsäure liefern, für die van der Haar die Bezeichnung Zuckerrüben-Sapogenin vorschlägt. Van der Haar beschreibt ein in Äther unlösliches Saponin vom Schmp. 214–216⁰, das bei der Hydrolyse 58.3% Sapogenin und 25.1% *d*-Glykuronsäure (berechnet aus Furfurol-phloroglucid) liefert, und 37.6 ccm n_{10} -Natronlauge zur Neutralisation von 1 g erfordert. Das äther-lösliche Saponin vom Schmp. 206⁰ ergibt bei der Spaltung 60.1% Sapogenin und 22% *d*-Glykuronsäure und braucht 50.8 ccm n_{10} -Natronlauge pro Gramm zur Neutralisation. Für das bei 110⁰ getrocknete Sapogenin vom Schmp. 307–308⁰ und $[\alpha]_D = +79.5^0$ wird die Formel $C_{31}H_{50}O_3$ aufgestellt. Das Sapogenin krystallisiert aus Alkohol mit 2 Mol. Wasser, die bei 105–110⁰ weggetrocknet werden können. Eine wesentliche Stütze scheint die Bruttoformel des Sapogenins durch die von van der Haar einwandfrei nachgewiesene Identität von Zuckerrüben-Sapogenin mit dem Oleanol aus Olivenblättern¹⁴⁾ und dem Caryophyllin aus Gewürznelken zu erhalten.

Im Verfolg der Arbeiten über den Kohlenhydrat-Bestandteil des Rüben-Saponins bin ich seit mehreren Jahren mit chemischen Arbeiten über den Bau des Rüben-Sapogenins beschäftigt, die zeitweise aus äußeren Gründen unterbrochen wurden, und über die ich erst jetzt abschließend berichten kann, wenn auch die entscheidenden Hauptergebnisse bereits vor längerer Zeit erhalten wurden. Die Saponin-Darstellung im hiesigen Institut erfolgte aus ausgelaugten Zuckerrüben-Schnitzeln durch Ausziehen mit Natronlauge, Fällen mit Salzsäure und Reinigung durch Behandlung mit verschiedenen Lösungsmitteln. Es konnte etwa 0.5% der luft-trockenen Schnitzel an Saponin erhalten werden, das den Schmp. 214–216⁰ und die spezif. Drehung $[\alpha]_D = +31.1^0$ zeigte; 1 g brauchte zur Neutralisation 31.05 ccm n_{10} -Natronlauge. Das Saponin war ein weißes, amorphes, fest asche-freies Pulver (0.12% Asche). Es ist in Methyl- und Äthylalkohol leicht, in Äther schwer löslich und kann durch stufenweises Ausäthern im

¹¹⁾ B. Tollens, Kurzes Handbuch d. Kohlenhydrate, Barth, Leipzig. — H. Pringsheim, Zuckerchemie, Leipzig 1925.

¹²⁾ Tschirch und Gauchmann, Arch. Pharmaz. **246**, 545 [1908].

¹³⁾ A. W. van der Haar, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **46**, 775, 793 [1927].

¹⁴⁾ Power und Tutin, Journ. chem. Soc. London **93**, 891 [1908]. — Tutin und Naunton, ebenda **105**, 2050 [1914].

Soxhlet-Apparat in Fraktionen mit merklich verschiedenen physikalischen Eigenschaften nicht zerlegt werden¹⁵⁾. Wie in Versuchen mit freundlicher Unterstützung von Hrn. Geheimrat I. Pohl (Breslau) festgestellt wurde, zeigt das Saponin starke hämolytische Eigenschaften. Durch Zugabe von Cholesterin konnte die Hämolyse jedoch nicht aufgehoben werden; entsprechend diesem Befunde war es auch nicht gelungen, ein Anlagerungsprodukt von Cholesterin an Rüben-Saponin herzustellen, was auf wesentliche Unterschiede mit den Saponinen vom Typus des Digitonins hinweist. Der Gehalt des Saponins an *d*-Glykuronsäure wurde durch Kohlensäure-Abspaltung nach dem von Lefèvre und Tollens¹⁶⁾ angegebenen Verfahren zu 30% festgestellt. Bei der Hydrolyse wurden außer der *d*-Glykuronsäure noch 68.67% Sapogenin erhalten.

Das aus Alkohol mehrfach umkrystallisierte, luft-trockene Sapogenin, in dem auf den üblichen Wegen (Permanganat-Reaktion von Baeyer, Addition von Brom) Doppelbindungen nicht nachgewiesen werden konnten, verlor, bei 105° bis zur Konstanz getrocknet, 7.12% Wasser. Der Schmelzpunkt wurde zu 301–302° (unkorr.) ermittelt, die spezif. Drehung war $[\alpha]_D = +78.82^\circ$. Zahlreiche, mit allen Vorsichtsmaßregeln ausgeführte Elementaranalysen des auffallend schwer verbrennlichen Körpers lieferten auf die von van der Haar aufgestellte Formel $C_{31}H_{50}O_3$ (ber. 79.08% C, 10.71% H) nicht ganz stimmende Resultate. Die Ergebnisse der Verbrennungen passen besser auf die Formel $C_{31}H_{48}O_3$ (ber. 79.42% C, 10.33% H), die für das Rüben-Sapogenin hiermit in Vorschlag gebracht wird. Die Titration, sowie die nach Rast¹⁷⁾ ausgeführte Molekulargewichts-Bestimmung stehen mit dieser Formel in Einklang. In der Literatur sich verstreut vorfindende Analysen-Ergebnisse von Oleanol, Caryophyllin und Rüben-Sapogenin, die ja nach van der Haar identisch sind, seien kurz zusammengestellt. Gerade die Tatsache, daß im allgemeinen eher zu wenig statt zu viel Kohlenstoff gefunden wird, scheint für die Richtigkeit der von mir neu aufgestellten Formel zu sprechen.

Rübenharzsäure K. Andrlík	Rüben- Sapogenin van der Haar ¹³⁾	Oleanol Power u. Tutin ¹⁴⁾	Caryophyllin van der Haar ¹³⁾	Rüben- Sapogenin Rehorst
u. E. Votoček ³⁾				
C 79.29, 79.18, 79.64	79.36, 79.10	79.10, 79.10	79.5	79.35, 79.46, 79.25
H 11.03, 11.11	11.04, 11.14	10.60, 10.70	10.63	10.33, 10.09, 10.59

Der Krystallwasser-Gehalt der lufttrocknen Substanz scheint nach der Darstellungsweise etwas zu variieren. Während im allgemeinen, der Formel $C_{31}H_{48}O_3 + 2H_2O$ entsprechend, beim Trocknen bis zu 105° etwa 7.1% Feuchtigkeit gefunden wird, konnten K. Andrlík und E. Votoček³⁾ nur 5.59% Wasser (Mittelwert von 8 Bestimmungen) wegtrocknen, was, auf die neue Sapogenin-Formel bezogen, für $1\frac{1}{2}$ Mol. Krystallwasser sprechen würde. Power und Tutin¹⁴⁾ geben für luft-trocknes Oleanol nur 3.7% = 1 Mol. Krystallwasser an.

¹⁵⁾ Wie zu erwarten stand, zeigte das aus frischen Futterrüben auf analoge Weise isolierte Saponin die gleichen physikalischen Eigenschaften.

¹⁶⁾ Lefèvre und Tollens, B. 40, 4513 [1907]. — Lefèvre, Dissertat., Göttingen 1907.

¹⁷⁾ K. Rast, B. 54, 1979 [1921], 55, 1051, 3727 [1922]; Ztschr. physiol. Chem. 126, 100 [1923].

Eine eigenartige Beobachtung wurde gemacht, als nach dem Erscheinen der van der Haarschen Arbeiten die Elementarzusammensetzung eines alten Sapogenin-Präparates, dessen Reinheit vor einigen Jahren einwandfrei festgestellt worden war, nachgeprüft werden sollte. Auch nach erneutem Umkrystallisieren konnten beim Trocknen selbst bis 140° immer nur Präparate erhalten werden, die, äußerlich und in ihren chemischen Eigenschaften unverändert, bei der Verbrennung einen um $1\frac{1}{2}\%$ niedrigeren Kohlenstoffgehalt ergaben, der scheinbar auf die Formel $C_{31}H_{48}O_3 + \frac{1}{2}H_2O$ deutete. Ob es sich hier tatsächlich um die Aufnahme von $\frac{1}{2}$ Mol. Konstitutionswasser oder nicht vielmehr um eine Autoxydation handelt, die zu einer entsprechenden Erniedrigung des Kohlenstoffgehaltes geführt hat, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Derselbe Befund wurde bei einem sehr alten, noch von Andrlík hergestellten Rübenharzsäure-Präparat¹⁸⁾ gemacht, für das der genannte Forscher früher nach dem Trocknen schon bei $100-105^{\circ}$ Kohlenstoffwerte beobachtet hat, die mit der neuen Sapogenin-Formel ohne Krystallwasser sehr gute Übereinstimmung zeigen.

Um einen Einblick in den Aufbau des Sapogenin-Moleküls zu erhalten, wurden zwei Reaktionen, die Zinkstaub-Destillation im Wasserstoffstrom und die Dehydrierung mittels Selen, angewandt. Schon Andrlík und Votoček³⁾ erhielten bei der Zinkstaub-Destillation der Rübenharzsäure ein gelbes Öl. Später wurde diese Reaktion von Winterstein und Blau¹⁹⁾ und namentlich van der Haar²⁰⁾ für Sapogenin-Untersuchungen ausgebaut, ist aber anscheinend bisher auf Rüben-Sapogenin nicht angewandt worden²¹⁾. Neben Kohlendioxyd, Wasser und benzin-artig riechenden Stoffen entstand ein dickes, gelbes, grünlich fluoreszierendes Öl, das durch Wasserdampf in einen damit flüchtigen und einen nicht flüchtigen, fluoreszierenden Anteil zerlegt werden konnte. Beide Anteile gaben, ebenso wie das ursprüngliche Sapogenin, mit Essigsäure-anhydrid und konz. Schwefelsäure eine Farb-reaktion.

Der mit Wasserdämpfen flüchtige Anteil fluorescierte nicht mehr und lieferte beim Destillieren im Vakuum ein farbloses, zugleich ätherisch (Cedernöl) und brenzlich riechendes Öl, dessen niedrigst siedende Fraktion die spezif. Drehung $[\alpha]_D = +3.75^{\circ}$, das spezif. Gewicht 0.9079 und $n_D^{21.5} = 1.5126$ aufwies. Das Öl verändert sich beim Stehen an der Luft und am Licht rasch und wird gelb. Permanganat- und Brom-Lösung werden entfärbt. Elementaranalyse und Molekulargewichts-Bestimmung des frisch destillierten Öles sprechen für ein Sesquiterpen von der Formel $C_{15}H_{24}$. Ein konstanter Siedepunkt war nicht festzustellen; dementsprechend hatten höher siedende Fraktionen auch andere physikalische Eigenschaften. Die Zinkstaub-Destillation liefert demnach ein Gemisch von Sesquiterpenen. Bei der Hydrierung mit Palladiumchlorür wurde genau die für eine Doppelbindung berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen. Es scheinen demnach aus dem Sapogenin tricyclische Sesquiterpene sich gebildet zu haben,

¹⁸⁾ Von Hrn. Direktor Dr. Stanek-Prag in freundlicher Weise im Austausch unserm Institut zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

¹⁹⁾ Winterstein und Blau, Ztschr. physiol. Chem. **75**, 433 [1911].

²⁰⁾ van der Haar, Arch. Pharmaz. **251**, 217 [1912]; Biochem. Ztschr. **76**, 345 [1916]; B. **55**, 1054 [1922]; Rec. Trav. chim. Pays-Bas **43**, 367 [1924].

²¹⁾ Abgesehen von einem orientierenden Versuch von van der Haar (Rec. Trav. chim. Pays-Bas **43**, 546 [1924]), ausgeführt mit 0.4 g Oleanol.

deren je eine Doppelbindung wohl an ihrer ehemaligen Haftstelle durch Ringsprengung entstanden ist. Die Entfernung des Hydroxyl-Sauerstoffs durch die Zinkstaub-Destillation braucht nicht unbedingt zur Erklärung hierfür herangezogen zu werden, da gerade in der Terpen-Chemie einwandfreie Beweise vorliegen, daß durch Zinkstaub einer Alkoholgruppe der Sauerstoff entzogen werden kann, ohne daß durch Wasser-Abspaltung eine Doppelbindung auftritt. Es sei an den Übergang von Linalool in Linaloolen²²⁾ und von Isoborneol in Dihydro-camphen²³⁾ erinnert. Bei der Titration des Sesquiterpens mit einer Brom-Lösung in Chloroform wurden unter starker Verfärbung (tief dunkelviolett) im ganzen 4 Atome Brom aufgenommen; es gelang jedoch nicht, ein krystallines Bromierungsprodukt zu erhalten.

Die Bedingungen der Zinkstaub-Destillation, namentlich die etwa 3 Stdn. innezuhaltende hohe Temperatur (weit über 400°), lassen dieser Arbeitsmethode bei der Labilität der Sesquiterpene, die nur zu leicht Umlagerungen, Polymerisationen, Ringsprengungen und -schließungen zugänglich sind, einen lediglich orientierenden Wert für die Konstitutions-Ermittlung der Sapogenine zukommen. Da eine größere Bedeutung hierfür das kürzlich von O. Diels²⁴⁾ und Mitarbeitern beschriebene schonende Dehydrierungs-Verfahren mittels Selen zu haben schien, wurde das Sapogenin einer Behandlung nach dieser Methode unterworfen. Das Reaktionsprodukt stellte ein teilweise krystallinisch erstarrendes Öl dar. Die Krystalle zeigten den Schmp. 273—275°. Das Öl lieferte mit Pikrinsäure ein orange gefärbtes Kondensationsprodukt, dessen zuerst herauskommende Krystalle den Schmp. 114—116° aufwiesen. Weitere Krystallisationen zeigten einen niedrigeren, unscharfen Schmelzpunkt. Aus ihnen wurde der Kohlenwasserstoff regeneriert und durch Kondensation mit Trinitro-resorcin in das Styphnat verwandelt, aus dem durch Umkrystallisieren ein zwischen 119° und 123° schmelzender Körper gewonnen werden konnte. Die Schmelzpunkte stimmen lediglich mit den in der Literatur angegebenen Schmelzpunkten von Cadalin-Pikrat 114—115°²⁵⁾ und Eudalin-Styphnat 119—120° überein. Mit aller bei der Identifizierung lediglich durch Schmelzpunkts-Bestimmungen gebotenen Reserve kann vielleicht aus diesen Befunden geschlossen werden, daß im Rüben-Sapogenin zwei hydrierte Naphthalin-Kohlenwasserstoffe sich vorfinden. Der krystalline Körper vom Schmp. 273—275° erwies sich durch Elementaranalyse und Molekulargewichts-Bestimmung als ein weitgehend dehydriertes Produkt von der nugefähren Zusammensetzung $C_{30}H_{20}O$ oder $C_{30}H_{18}O$, bei dem also das Kohlenstoffskelett des Sapogenins noch fast vollständig intakt geblieben ist; trotzdem gibt er nicht mehr die Liebermannsche Cholestol-Reaktion.

Auf Grund meiner eingehenden Untersuchung der Spaltprodukte glaube ich für das Zuckerrüben-Saponin die Formel $C_{37}H_{56}O_9$ aufstellen zu können, die auch durch Elementaranalysen gestützt wird. Die Ergebnisse der Titration

²²⁾ F. W. Semmler, B. **27**, 2520 [1894].

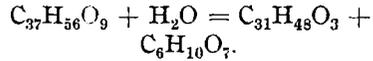
²³⁾ F. W. Semmler, B. **33**, 776 [1900].

²⁴⁾ O. Diels, W. Gädke und P. Körding, A. **459**, 1 [1927]. — O. Diels und A. Karstens, B. **60**, 2323 [1927].

²⁵⁾ Ruzicka und J. Meyer, Helv. chim. Acta **4**, 505 [1921]; auch von O. Diels und A. Karstens zur Identifizierung beim Dehydrieren mit Selen benutzt.

Nach Extrahieren	Saponin-Fraktion	% vom angewandten Saponin	$[\alpha]_D$	1 g = ccm n_{16}^{20} -NaOH	% d-Glykuronsäure	Schmp.
6 Stdn.	in Äther gelöst	12.8	+ 34.1 ⁰	29.40		211—212 ⁰
	aus dem Äther fest ausgeschieden	32.2	+ 30.6 ⁰ + 31.1 ⁰	30.60	30.03 29.96	215—216 ⁰
weitere 24 Stdn.	aus dem Äther fest ausgeschieden	39.5	+ 29.5 ⁰	30.65	29.76	214—216 ⁰
weitere 32 Stdn.	„	4.2	+ 33.5 ⁰	29.50	28.66	
weitere 29 Stdn.	„	4.4				
	Rückstand	2.47 g				

lassen, wie zu erwarten stand, auf 2 freie Carboxylgruppen schließen. Die Hydrolyse des Saponins wird dann gekennzeichnet durch die Gleichung:



Die Spaltprodukte konnten innerhalb der Fehlergrenzen in den der Gleichung entsprechenden Mengen nachgewiesen werden.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung von Zuckerrüben-Saponin.

Als Ausgangsmaterial dienen Trockenschnitzel, die in der Zuckerfabrik Fröbeln aus frischen Rüben durch Diffusion gewonnen und mit Feuergasen getrocknet waren. Sie enthielten luft-trocken durchschnittlich noch etwa 10—15% Wasser. 1 kg luft-trockne Rübenschnitzel werden mit 13.5 l $\frac{1}{2}$ -proz. Natronlauge unter gelegentlichem Umrühren 24 Stdn. stehen gelassen. Die alkalische Flüssigkeit wird durch ein Sieb abgossen, die Schnitzel werden ausgepreßt. Die vereinigten Filtrate (etwa 11 l) werden mit 340 ccm 10-proz. Salzsäure schwach kongosauer gemacht. Der entstehende flockige Niederschlag wird kolliert, auf dem Koliertuch mit 4 l Wasser ausgewaschen und auf dem Wasserbade getrocknet. Aus 10 kg Schnitzel gewinnt man so 225 g Rohprodukt in Form von stark dunkel gefärbten Blättern. Dieses wird 4-mal mit 96-proz. Alkohol ausgekocht. Aus der alkohol. Lösung scheiden sich beim Eindampfen 82.9 g Rohsaponin ab, das man in 830 ccm kaltem Methanol auflöst. Auf Zugabe von 4200 ccm Äther entsteht eine Fällung, von der abfiltriert wird. Das methylalkohol-ätherische Filtrat liefert beim Einengen 67.60 g, die durch Dialyse

gegen destilliertes Wasser und nochmaliges Lösen in Methylalkohol und Verzetzen mit Äther zu reinigen sind. Die so vorgereinigte Masse wird mit niedrigsiedendem Petroläther im Soxleth-Apparat ausgezogen und der Rückstand mehrmals mit heißem Wasser ausgelaugt. Es bleiben 42.5 g fast rein weißes Saponin, das im Soxleth-Apparat mit Äther in mehrere, untereinander nur wenig verschiedene Fraktionen zerlegt werden kann.

Die Saponin-Fraktionen I und IV waren schwach gelblich gefärbt, während II und III rein weiß erschienen. Zur Bestimmung der physikalischen Konstanten wurde die Substanz im Vakuum über Phosphorperoxyd bei 78° bis zur Konstanz getrocknet. Nach den folgenden Bestimmungen liegt in den Präparaten II und III ein absolut reines Saponin vor. Es ist leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, schwer löslich in Äther, unlöslich in Wasser.

Saponin-Fraktion I, Schmp. 211—212°.

Titration: 0.2314 g Sbst. verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein 6.80 ccm n_{10} -Natronlauge; 1 g Sbst. demnach 29.40 ccm n_{10} -NaOH; $C_{37}H_{56}O_9$. Ber. 31.05 ccm (für 2 Carboxylgruppen).

Spez. Drehung in methylalkoholischer Lösung: $l = 1$, $c = 6.423$, $\alpha_D^{20} = +2.19^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20} = +34.10^{\circ}$.

Saponin-Fraktion II, Schmp. 215—216°.

Aschengehalt: 0.3233 g Sbst.: 0.0004 g = 0.12 % Asche. — 0.1751, 0.2432, 0.1567 g Sbst., mit Berücksichtigung des Aschengehaltes 0.1749, 0.2429, 0.1565 g Sbst.: 0.4408, 0.6127, 0.3943 g CO_2 , 0.1356, 0.1956, 0.1239 g H_2O .

$C_{37}H_{56}O_9$. Ber. C 68.90, H 8.76. Gef. C 68.74, 68.79, 68.72, H 8.68, 9.01, 8.86.

Titration: 0.2385 g Sbst. verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein 7.30 ccm n_{10} -Natronlauge; 1 g Sbst. demnach 30.60 ccm n_{10} -NaOH; $C_{37}H_{56}O_9$. Ber. 31.05 ccm (für 2 Carboxylgruppen).

Spez. Drehung in methylalkoholischer Lösung:

$$l = 1, c = 4.769, \alpha_D^{20} = +1.46^{\circ}, [\alpha]_D^{20} = +30.61^{\circ}.$$

$$l = 1, c = 7.693, \alpha_D^{18} = +2.39^{\circ}, [\alpha]_D^{18} = +31.07^{\circ}.$$

Gehalt an *d*-Glykuronsäure nach Lefèvre und Tollens¹⁶): 1.0644, 0.8949 g Sbst.: 0.0725, 0.0608 g CO_2 .

$C_{37}H_{56}O_9$. Ber. CO_2 6.83, entspr. *d*-Glykuronsäure 30.12.

Gef. „ 6.81, 6.79; „ „ 30.03, 29.96.

Da Rüben-Sapogenin unter gleichen Versuchsbedingungen nennenswerte Mengen CO_2 nicht abgibt, kann das gefundene Kohlendioxyd ohne weiteres in *d*-Glykuronsäure umgerechnet werden.

Gehalt an Sapogenin: 0.8382 g Sbst. wurden mit 50 ccm 10-proz. Salzsäure 4 Stdn. am Rückflußkühler auf dem Wasserbade erhitzt, dann weitere $4\frac{1}{2}$ Stdn. auf dem Babo-Blech gekocht. Der Rückstand wurde durch ein Glasfilter abgesaugt, mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der Cl⁻ gewaschen, dann bei 105—109° bis zur Konstanz getrocknet; 0.5756 g Sapogenin.

$C_{37}H_{56}O_9$. Ber. $C_{31}H_{48}O_3$ 72.68. Gef. $C_{31}H_{48}O_3$ 68.67.

Die Verluste erklären sich dadurch, daß durch das langdauernde Erhitzen auch das Sapogenin angegriffen wird oder beim Auswaschen etwas in Lösung geht.

Saponin-Fraktion III, Schmp. 214—216°.

Titration: 0.3523 g Sbst. verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein 10.80 ccm n_{10} -Natronlauge; 1 g Sbst. demnach 30.66 ccm n_{10} -NaOH; $C_{37}H_{56}O_9$. Ber. 31.05 ccm (für 2 Carboxylgruppen).

Spez. Drehung in methyalkoholischer Lösung: $l = 1$, $c = 7.045$, $\alpha_D^{17} = +2.08^\circ$,
 $[\alpha]_D^{17} = +29.52^\circ$.

Gehalt an *d*-Glykuronsäure nach Lefèvre und Tollens¹⁶⁾: 0.8759 g Sbst.:
 0.0591 g CO₂.

C₃₇H₅₈O₉. Ber. CO₂ 6.83, entspr. *d*-Glykuronsäure 30.12.
 Gef. „ 6.75, „ „ 29.76.

Saponin-Fraktion IV.

Titration: 0.1762 g Sbst. verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein
 5.20 ccm *n*₁₀-Natronlauge; 1 g Sbst. demnach 29.50 ccm *n*₁₀-NaOH; C₃₇H₅₈O₉. Ber.
 31.05 ccm (für 2 Carboxylgruppen).

Spez. Drehung in methyalkoholischer Lösung: $l = 1$, $c = 6.207$, $\alpha_D^{17} = +2.08^\circ$,
 $[\alpha]_D^{17} = +33.51^\circ$.

Gehalt an *d*-Glykuronsäure nach Lefèvre und Tollens¹⁶⁾: 0.8186 g Sbst.:
 0.0532 g CO₂.

C₃₇H₅₈O₉. Ber. CO₂ 6.83; entspr. *d*-Glykuronsäure 30.12.
 Gef. „ 6.50; „ „ 28.66.

Versuche zur Darstellung eines Rübensaponin-Cholesterids.

0.1 g Saponin wurde in 10 ccm Alkohol gelöst und mit einer alkohol.
 Lösung von 0.1 g Cholesterin versetzt. Weder in der Kälte, noch nach Er-
 wärmen trat eine Ausscheidung ein. Beim Einengen der Lösung schied sich
 unverändertes Cholesterin vom Schmp. 148° wieder ab. Es gelingt also
 auf diesem Wege nicht, eine Verbindung von Rüben-Saponin mit Cholesterin
 zu gewinnen.

Hämolyse-Versuch mit Rüben-Saponin.

Frisch entnommenes Kaninchenblut wurde mit 0.9-proz. Kochsalz-
 Lösung verdünnt und mit einer soda-alkalischen Saponin-Lösung versetzt.
 Es trat sofort in der Kälte deutliche Hämolyse ein. Sie erfolgte mit
 gleicher Stärke auch dann, wenn vorher das Blut mit Cholesterin angerührt
 war, was mit dem obigen Versuch im Einklang steht.

Spaltung des Rüben-Saponins.

Isolierung und Untersuchung der *d*-Glykuronsäure.

57 g Rüben-Saponin (II., III. und IV. Fraktion) wurden in der aus
 der Tabelle auf S. 528 ersichtlichen Weise mit verd. Schwefelsäure von genau
 bekanntem Gehalt, meist im nur lose bedeckten Porzellanbecher, hydro-
 lysiert. Das im Verlauf einer Spaltung verdunstende Wasser wurde von
 Zeit zu Zeit ergänzt. Da die Spaltung nur sehr langsam erfolgte, wurde,
 um die herausgelöste *d*-Glykuronsäure der Zerstörung durch längere Ein-
 wirkung von heißer Schwefelsäure zu entziehen, gelegentlich filtriert und
 der Rückstand mit neuer Schwefelsäure behandelt. Im ganzen wurde 17-mal
 die Schwefelsäure erneuert. Die Filtrate wurden gesondert im Vakuum
 eingeeengt, auf 100 ccm aufgefüllt und polarisiert. Da die letzten beiden
 Filtrate kaum noch nennenswert die Ebene des polarisierten Lichtes drehten,
 wurden sie nicht mehr weiter verarbeitet.

Nr.	Schwefelsäure		Art der Einwirkung	Temperatur	Dauer der Einwirkung Stdn.	Filtrat auf 100 ccm, Drehung im 1-dm-Rohr
	ccm	g H ₂ SO ₄				
1	1000	4.561	im Wasserbade	96°	2	+ 0.35°
2	900	4.105	„	96°	9	+ 1.04°
3	1000	4.561	„	96°	7	+ 0.66°
4	1000	4.561	„	96°	9	+ 0.62°
5	1000	4.561	am Rückfluß gekocht	100°	3	+ 0.38°
6	1000	9.269	im Wasserbade	96°	10	+ 0.58°
7	1000	9.269	„	96°	25	+ 1.04°
8	1000	9.269	„	96°	31	+ 0.97°
9	1870	17.331	„	96°	33	+ 0.73°
10	1000	4.757	am Rückfluß gekocht	100°	7	+ 0.17°
11	1200	12.103	im Wasserbade	96°	30	+ 0.38°
12	1000	19.738	„	96°	30	+ 0.21°
13	540	10.655	Autoklav 1.7 Atm.	123—124°	1	+ 0.21°
14	490	9.670	Autoklav 1.5—3.3 Atm.	125—142°	1	+ 0.21°
15	656	12.945	Autoklav 1.8—2.9 Atm.	128—138°	2 ¹ / ₄	+ 0.07°
16	654	12.906	Autoklav 1.6—3.2 Atm.	126—140°	2	+ 0.03°
17	696	13.734	Autoklav 1.5—4.3 Atm.	120—147°	3	+ 0.02°

Zu den Hydrolysen 1—15 sind also zusammen 137.355 g Schwefelsäure verwendet worden; diese wurde durch allmähliche Zugabe von 445 g Barythydrat, in heißem Wasser gelöst, vollständig entfernt, wobei noch ein Teil der *d*-Glykuronsäure in das Bariumsulfat überging. In einen aliquoten Teil des Filtrates vom Bariumsulfat bestimmte man die Acidität und neutralisierte die Hauptmenge derselben mit genau eingestellter Baryt-Lösung, den Rest mit wenig Bariumcarbonat. Die wäßrige Lösung des Bariumsulfates wurde eingengt und mit Alkohol versetzt. Das glykuronsaure Barium wurde durch mehrmaliges Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol, sowie durch Kochen der wäßrigen Lösung mit Kohle gereinigt. Schließlich wurde ein rein weißes, in Wasser sich farblos auflösendes Salz erhalten.

0.7918 g Stbst. bei 70—78° 7 Stdn. an der Luft getrocknet: 0.3564 g BaSO₄, C₁₂H₁₈O₁₄Ba. Ber. Ba 26.25. Gef. Ba 26.49.

Spez. Drehung in Wasser: $l = 1$, $c = 3.104$, $\alpha_D^{20} = +0.52^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = +16.75^\circ$.

Die wäßrig-alkoholischen Lösungen, aus denen das Bariumsulfat ausgefallen war, lieferten beim Einengen 0.7 g bräunlich gefärbten Zuckersirup, der Fehlingsche Lösung reduzierte, die Pentosen-Reaktion mit Orcin gab und demnach wohl durch die langdauernde Säure-Behandlung entstandene Zersetzungsprodukte der *d*-Glykuronsäure enthält.

Das glykuronsaure Barium wurde in Wasser gelöst und bei mäßiger Wärme (am besten arbeitet man bei Zimmer-Temperatur) mit Schwefel-

säure ausgetüpfelt. Das noch einen Hauch Ba''-haltige Filtrat vom Bariumsulfat wird im Vakuum eingengt und mit Alkohol versetzt, um die letzten Reste glykuronsaures Barium zu entfernen. Die alkohol. Lösung lieferte beim Einengen im Vakuum einen Sirup, der durch erneutes Verreiben mit Alkohol von einigen amorphen Abscheidungen befreit und wiederum eingengt wurde. Der schließlich im Gewicht von 5.80 g erhaltene gelbbraune Sirup krystallisierte nach einigen Tagen spontan in Nadeln, die sich bald durch die ganze Masse ausbreiteten. Der mit Krystallen durchsetzte Sirup wurde mit Alkohol angerührt, die Krystalle abgenutscht, mit Alkohol und Äther nachgewaschen; Ausbeute 3.40 g. Die *d*-Glykuronsäure wurde aus 90-proz. Alkohol umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Schmp. 152—153°.

0.1437 g Sbst.: 0.1948 g CO₂, 0.0659 g H₂O.

C₆H₁₀O₇. Ber. C 37.11, H 5.15. Gef. C 36.96, H 5.13.

Titration: 0.1150 g Sbst. verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein 5.95 ccm *n*/₁₀-Natronlauge, 1 g Sbst. demnach 51.85 ccm *n*/₁₀-NaOH. C₆H₁₀O₇. Ber. 51.50 ccm.

Spez. Drehung in wäßriger Lösung: $l = 1$, $c = 2.816$ Anfangsdrehung sofort nach dem Auflösen:

$\alpha_D^{20} = +0.35^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = +12.43^\circ$. Enddrehung nach etwa 2 Stdn. erreicht: $\alpha_D^{20} = +1.01^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = +35.87^\circ$.

Oxydation der *d*-Glykuronsäure mit Brom zur *d*-Zuckersäure.

0.5208 g krystallisierte *d*-Glykuronsäure wurden in Wasser zu 20 ccm gelöst, mit 5 ccm Brom versetzt und in verschlossener Stöpselflasche unter gelegentlichem Umschütteln 17 Tage bei Zimmer-Temperatur stehen gelassen. Danach wurde das überschüssige Brom unter Durchleiten eines Luftstromes entfernt und die verbleibende Lösung wiederum auf 20 ccm mit Wasser aufgefüllt. Sie reduzierte Fehlingsche Lösung nicht mehr, zeigte aber deutliche Rechtsdrehung. In der Annahme, daß die Glykuronsäure vollständig in die Zuckerlactonsäure übergegangen ist, müßten 0.5397 g Zuckerlactonsäure entstanden sein. Die spez. Drehung der letzteren wurde unter Zugrundelegung dieser Zahl berechnet.

Spez. Drehung in wäßriger Lösung: $l = 1$, $c = 2.669$, $\alpha_D^{20} = +0.56^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = +20.75^\circ$.

In der Literatur ist die Enddrehung der krystallisierten Zuckerlactonsäure zu $[\alpha]_D = +22.5^\circ$ angegeben.

Die Überführung der Zuckersäure in das Bariumsalz geschah mit Barytwasser. Das nebenbei entstandene Bariumbromid wurde durch mehrmaliges Auskochen mit 96-proz. Alkohol bis auf eine Spur entfernt.

0.2207 g Sbst. (bei 98—105° getrocknet): 0.1522 g BaSO₄.

C₆H₈O₈Ba. Ber. Ba 39.77. Gef. Ba 40.58.

Der Überschuß an Barium ist wahrscheinlich auf das nicht vollständig entfernte Bariumbromid (Ba 46.22) zurückzuführen.

Zur Überführung von krystallisierter *d*-Glykuronsäure in das Lacton wurden 1.16 g der Säure in etwa 25 ccm Wasser gelöst. Die wäßrige Lösung wurde etwa 3 Min. gekocht, dann auf dem Wasserbade, später im Vakuum über Schwefelsäure zum Sirup eingengt. Die aus-

geschiedenen Krystalle (0.34 g) wurden aus Alkohol umgelöst und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Schmp. 174—175°, in der Literatur ist 175—178° angegeben.

0.1746 g Sbst.: 0.2632 g CO₂, 0.0676 g H₂O.

C₆H₈O₆. Ber. C 40.91, H 4.58. Gef. C 41.11, H 4.33.

Spez. Drehung in wäßriger Lösung: l = 1, c = 4.580, $\alpha_D^{20} = +0.88^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = +19.21^\circ$ (also übereinstimmend mit Literatur-Angaben).

Untersuchung des Rüben-Sapogenins.

Bei der Spaltung von 57 g Rüben-Saponin waren 38.12 g = 66.88% Sapogenin erhalten worden, das mehrfach aus 96-proz. Alkohol, worin es schwer löslich ist, umgelöst wurde; es krystallisiert in verfilzten Nadeln, die an der Luft getrocknet wurden.

Feuchtigkeits-Bestimmung der luft-trocknen Substanz: 1.4956 g Sbst., bei 108—110° an der Luft bis zur Konstanz getrocknet, verloren 0.1062 g Wasser.

C₃₁H₄₈O₃ + 2 H₂O. Ber. H₂O 7.14. Gef. H₂O 7.12.

Untersuchung der bei 105—110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz, Schmp. 301—302° (unkorr.).

0.1535, 0.1499, 0.1571 g Sbst.: 0.4466, 0.4356, 0.4577 g CO₂, 0.1417, 0.1418, 0.1416 g H₂O.

C₃₁H₄₈O₃. Ber. C 79.42, H 10.33. Gef. C 79.35, 79.25, 79.46, H 10.33, 10.59, 10.09.

Titration: Da sich das Sapogenin wegen schwerer Benetzbarkeit nicht direkt titrieren ließ, wurden 1.0528 g Sbst. mit 42.10 ccm n/10-Kalilauge unter Durchleiten eines Wasserstoffstromes 1 Stde. am Rückflußkühler in gelindem Sieden erhalten. Nach dem Erkalten wurde die überschüssige Kalilauge mit 19.80 ccm n/10-Schwefelsäure gegen Phenol-phthalein zurücktitriert. 1.0528 g Sbst. hatten also 22.30 ccm n/10-Natronlauge verbraucht; 1 g Sbst. demnach 21.20 ccm n/10-NaOH. C₃₁H₄₈O₃. Ber. 21.35 ccm.

0.0938 g Sbst., gelöst in Pyridin, verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein 2.05 ccm n/10-Natronlauge; 1 g Sbst. demnach 21.55 ccm n/10-NaOH. — C₃₁H₄₈O₃. Ber. 21.35 ccm.

Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast: 0.0023, 0.0602, 0.0174 g Sbst. in 0.0462, 0.8035, 0.1239 g Campher; Δ 4.5°, 6°, 13°.

C₃₁H₄₈O₃. Ber. Mol.-Gew. 468.5. Gef. 442, 499, 432.

Spez. Drehung in 96-proz. Alkohol: l = 2, c = 0.406, $\alpha_D^{20} = +0.64^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = +78.82^\circ$.

Darstellung des Acetyl-sapogenins.

1.33 g Sapogenin wurden mit 28 g Essigsäure-anhydrid und 7 g frisch entwässertem Natriumacetat am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten wird das Reaktionsprodukt in Wasser gegossen, aus Eisessig umkrystallisiert, mehrmals mit Wasser gewaschen und nochmals aus Eisessigester mit Kohle umkrystallisiert. Nadelförmige Krystalle, die im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurden: 1.1 g. Schmp. 260—261° (van der Haar¹³): 260°).

0.1259 g Sbst.: 0.3572 g CO₂, 0.1127 g H₂O.

C₃₃H₅₀O₄. Ber. C 77.59, H 9.88. Gef. C 77.22, H 10.02.

Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast: 0.0262 g Sbst. in 0.1298 g Campher: Δ 16°.

C₃₃H₅₀O₄. Ber. Mol.-Gew. 510. Gef. Mol.-Gew. 505.

Titration: 0.2229 g Sbst. wurden in Alkohol aufgeschwemmt und verbrauchten gegen Phenol-phthalein direkt 5.00 $n/_{10}$ -alkoholische Kalilauge. Das Ganze wurde mit überschüssiger Kallauge im Wasserstoffstrom 1 Stde. am Rückflußkühler gekocht. Durch Zurücktitrieren wurde ein weiterer Verbrauch von 3.55 ccm $n/_{10}$ -KOH zur Abspaltung der Acetylgruppe festgestellt. 1 g Sbst. verbraucht demnach 22.50 + 16.0 = 38.50 $n/_{10}$ -KOH. — $C_{30}H_{46}(O.CO.CH_3).COOH$. Ber. 19.6 + 19.6 = 39.2 ccm $n/_{10}$ -KOH.

Untersuchung gealterter Rübensapogenin-Präparate.

Sapogenin-Präparate, aus 96-proz. Alkohol umkrystallisiert, zeigen, an der Luft bis zur Konstanz getrocknet, die Zusammensetzung $C_{31}H_{48}O_3 + 2H_2O$. Das Krystallwasser kann durch Trocknen bei 105–110° restlos entfernt werden. Wurden derartige krystallwasser-freie Präparate lange Zeit an der Luft aufbewahrt, dann gaben sie beim Trocknen im Vakuum über Phosphor-pentoxyd bei 100° kein Wasser ab und zeigten eine Zusammensetzung, die scheinbar der Formel $C_{31}H_{48}O_3 + 1/2H_2O$ entspricht, die aber auch ebensogut darauf zurückgeführt werden kann, daß der Sauerstoff-Gehalt des Sapogenins durch partielle Autoxydation eine entsprechende Vergrößerung erfahren hat. Zur Untersuchung gelangte ein eigenes, mehrere Jahre altes Präparat, das vor Jahren auf die Formel $C_{31}H_{48}O_3$ stimmende Elementaranalysen geliefert hatte. Das Präparat verlor, 10 Stdn. im Vakuum über Phosphor-pentoxyd bei 100° getrocknet, nichts an Gewicht:

0.1123, 0.1301 g Sbst.: 0.3207, 0.3710 g CO_2 , 0.1024, 0.1207 g H_2O .

$C_{31}H_{48}O_3 + 1/2 H_2O$. Ber. C 77.92, H 10.35.

$C_{31}H_{48}O_3 + 1/2 O$. Ber. C 78.09, H 10.16.

Gef. C 77.85, 77.77, H 10.20, 10.38.

Dasselbe Präparat wurde erneut aus 96-proz. Alkohol umkrystallisiert, 4 Tage im Vakuum über Schwefelsäure, dann 4 1/2 Stdn. bei 150° an der Luft getrocknet.

0.1165, 0.1112 g Sbst.: 0.3322, 0.3164 g CO_2 , 0.1120, 0.1031 g H_2O .

$C_{31}H_{48}O_3 + 1/2 H_2O$. Ber. C 77.92, H 10.35.

$C_{31}H_{48}O_3 + 1/2 O$. Ber. C 78.09, H 10.16.

Gef. C 77.82, 77.87, H 10.38, 10.02.

Es wurde ferner ein Rübenharzsäure-Präparat von K. Andrlík¹⁸⁾ untersucht:

Zum Trocknen wurde eine Probe 1/2 Stde. auf 130° erhitzt: 0.1126 g Sbst.: 0.3213 g CO_2 , 0.1045 g H_2O . Eine andere Probe wurde zum Trocknen 1 1/2 Stdn. auf 157° erhitzt: 0.1251 g Sbst.: 0.3572 g CO_2 , 0.1120 g H_2O .

$C_{31}H_{48}O_3 + 1/2 H_2O$. Ber. C 77.92, H 10.35.

$C_{31}H_{48}O_3 + 1/2 O$. Ber. C 78.09, H 10.16.

Gef. C 77.82, 77.87, H 10.38, 10.02.

Zinkstaub-Destillation des Rüben-Sapogenins.

Die Zinkstaub-Destillation wurde im allgemeinen nach den von Winterstein und Blau¹⁹⁾, sowie von van der Haar²⁰⁾ ausgearbeiteten Vorschriften ausgeführt. Das getrocknete Sapogenin wurde mit der 10-fachen Menge Zinkstaub vermischt und im Wasserstoffstrom aus einer sich im Sandbade befindenden, schwer schmelzbaren Retorte bei gewöhnlichem Druck einer raschen Destillation unterworfen. Dabei entwickelten sich gasförmige Destillationsprodukte: Wasser, reichliche Mengen Kohlendioxyd, nachgewiesen mit Barytwasser, und benzin-artig riechende Gase. Ferner

destilliert ein schweres, dickflüssiges, gelblichgrün fluoreszierendes Öl, das aus dem Retortenhals und der Vorlage mit Äther herausgelöst werden kann. Die Ausbeute an diesem Öl macht rund 60–70% des angewandten Saponins aus. Das Öl wird der Wasserdampf-Destillation unterworfen.

Der mit Wasserdämpfen flüchtige Anteil wird mit Äther ausgeschüttelt, die Äther-Lösung erst mit Chlorcalcium, dann mit metallischem Natrium getrocknet. Es werden etwa 30% des angewandten Sapogenins als mit Wasserdämpfen flüchtiger Anteil gewonnen. 2.8 g dieses Öles wurden bei 11 mm Druck über Natrium fraktioniert. Die Destillation begann bei einer Metallbad-Temperatur von 130°. Die erste Fraktion wurde bis zu 161° (Außentemperatur) aufgefangen. Ein einheitlicher Siedepunkt war nicht festzustellen. Besonders reichlich wurde ein Übergehen zwischen 130° und 140°, 146–154° und 159–161° beobachtet. 1.18 g 1. Fraktion. Bei einer Metallbad-Temperatur von 161–164° und 11 mm Druck wurden noch 0.4 g einer 2. Fraktion gewonnen.

Untersuchung der 1. Fraktion: Farbloses, nicht fluoreszierendes, nach Cedernöl und etwas brenzlich riechendes Öl, das Permanganat-Soda-Lösung, sowie Bromwasser stark entfärbt und dadurch das Vorhandensein mindestens einer Doppelbindung anzeigt. Mit Essigsäure-anhydrid und einer Spur konz. Schwefelsäure (Liebermannsche Cholestol-Probe) tritt zunächst eine schwach bräunliche Färbung ein, die bald in lila umschlägt.

0.1302 g Subst.: 0.4201 g CO₂, 0.1358 g H₂O.

(C₅H₈)₄. Ber. C 88.15, H 11.85. Gef. C 87.97, H 11.67.

Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast: 0.0494 g Subst. in 0.4735 g Campher: Δ 19°. — C₁₅H₂₄. Ber. Mol.-Gew. 204. Gef. Mol.-Gew. 220.

Spez. Drehung in Äther-Lösung: l = 2, c = 10, α_D²⁰ = +0.75°, [α]_D²⁰ = +3.75°. $d_D^{20} = 0.9079$, $n_D^{21.5} = 1.5126$.

Bestimmung der Anzahl der Doppelbindungen durch Hydrieren mit Palladiumchlorür: 1.1128 g Subst. verbrauchten bei 20° und 750 mm Druck 132 ccm Wasserstoff.

C₁₅H₂₄ $\sqrt{1}$. Ber. H₂ unter Normalbedingungen 122 ccm.

Gef. H₂ „ „ 118.5 ccm.

Der Versuch, den Gehalt des Sesquiterpens an Doppelbindungen durch Titration mit *n*-Brom-Lösung in Chloroform zu bestimmen, wurde dadurch sehr erschwert, daß, obgleich bei 0° gearbeitet wurde, bereits nach Zugabe weniger Kubikzentimeter der Brom-Lösung eine intensive Rotviolett-färbung eintrat, so daß nur durch Tüpfelprobe mit Jodkalium-Stärke-Papier der Endpunkt der Reaktion zu erkennen war.

0.8165 g Subst. wurden in 25 g frisch destilliertem Chloroform farblos gelöst. Die Lösung färbte sich beim Stehen in diffusum Licht innerhalb 24 Stdn. deutlich gelb und verbrauchte 16.50 ccm *n*-Brom-Lösung, bis ein deutlicher Halogen-Überschuß bestehen blieb.

C₁₅H₂₄. Für die Aufnahme von 4 Atomen Brom sind berechnet 15.63 ccm *n*-Brom-Lösung. Außer 2 Atomen Brom zur Addition an die Doppelbindung sind anscheinend noch 2 weitere Bromatome durch Substitution eingeführt worden. Es gelang nicht, ein krystallines Bromierungsprodukt zu erhalten.

Untersuchung der 2. Fraktion: Sie stellte ein hellgelbes Öl von $n_D^{21} = 1.5342$ dar.

Der mit Wasserdämpfen nicht-flüchtige Anteil des Zinkstaub-Destillationsproduktes (etwa 30% des angewandten Sapogenins) wurde in

Äther aufgenommen und die Äther-Lösung mit Calciumchlorid und Natrium getrocknet. Beim Abdestillieren des Äthers blieb ein rotgelbes Öl, dessen 1. Fraktion bei 11 mm Druck und einer Metallbad-Temperatur von 180—240° als sehr dickflüssiges, gelbes, grünlich fluoreszierendes Öl von schwach terpen-artigem Geruch überging. Bei noch höherer Temperatur destillierte ein dunkel gefärbtes, geruchloses Öl über. Die zunächst übergehende Fraktion gab mit Essigsäure-anhydrid und einer Spur konz. Schwefelsäure zunächst Lilafärbung, die rasch über blau, grünlich in olivgrün überging und allmählich gelbgrün wurde.

Dehydrierung des Rüben-Sapogenins mittels Selen.

10.55 g bei 150° getrocknetes Sapogenin wurden mit 4.4 g Selen vermischt und nach der von Diels²⁶⁾ und Mitarbeitern angegebenen Methode in einem mit Gaseinleitungsrohr und Luftkühler versehenen Erlenmeyer-Kolben, der durch ein Metallbad geheizt wurde, unter fortwährendem Durchleiten eines trocknen Kohlensäure-Stromes auf etwa 325° erhitzt. Nach 7 Stdn. gab man weitere 13.2 g Selen hinzu, und die Temperatur des Metallbades wurde noch weitere 40 Stdn. auf der angegebenen Höhe gehalten. Nach dieser Zeit hatte die Entwicklung von Selenwasserstoff aufgehört. Nach dem Erkalten wurde das schwarze Reaktionsprodukt mit Äther ausgekocht. Die rötlichgelbe ätherische Lösung lieferte beim Einengen eine kristallinisch (Nadeln) erstarrende, schwarze, ziemlich feste Masse, die im Vakuum über Schwefelsäure kurz getrocknet (2.82 g), mit Äther verrührt und abgesaugt wurde. Die zurückbleibenden Krystalle wurden noch 2-mal mit Äther gewaschen, worin sie mit gelber Farbe, grünlich fluoreszierend, merklich löslich sind. Erst an der Luft, dann im Vakuum über Schwefelsäure, zum Schluß 20 Stdn. im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° getrocknet: 0.27 g grünliche Nadeln. Es handelt sich bei diesem Körper um ein weitgehend dehydriertes Produkt von der ungefähren Formel $C_{30}H_{20}O$ oder $C_{30}H_{18}O$, das die Liebermannsche Cholestol-Reaktion nicht mehr gibt. Schmp. 272—275°.

0.1050, 0.1015 g Sbst.: 0.3510, 0.3390 g CO_2 , 0.0540, 0.0460 g H_2O .

Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast: 0.0158 g Sbst. in 0.1839 g Campher: $\Delta = 8^\circ, 8.5^\circ$.

$C_{30}H_{20}O$. Ber. C 90.87, H 5.09, Mol.-Gew. 396.

$C_{30}H_{18}O$. Ber. C 91.34, H 4.60, „ 394.

Gef. C 91.17, 91.09, H 5.76, 5.07, Mol.-Gew. 429, 404.

Die ätherischen Filtrate des Dehydrierungsproduktes ließ man an der Luft verdunsten. Sie erstarrten zu einer dunklen, anscheinend noch Krystalle enthaltenden Masse: 2.58 g. Diese wurde mit Alkohol ausgekocht und die Lösung filtriert. Das dunkelgelbe, grünlich fluoreszierende Filtrat wurde mit einer alkohol. Lösung von 3 g Pikrinsäure versetzt, wobei sofort Dunkelrotfärbung eintrat, und einmal aufgeköcht²⁷⁾. Beim Eindunsten schied sich das Kondensationsprodukt ab. Das Pikrat wurde aus Alkohol

²⁶⁾ Für die freundlichst erteilte Einwilligung, diese Arbeitsmethode auf das Rüben-Sapogenin anzuwenden, spreche ich auch an dieser Stelle Hrn. Prof. O. Diels (Kiel) meinen verbindlichsten Dank aus.

²⁷⁾ L. Ruzicka, Über Konstitutionen und Zusammenhänge in der Sesquiterpen-Reihe. Borntreager, Berlin 1928.

umkrystallisiert. Die zuerst herauskommenden, orangeroten Nadeln zeigten den deutlichen Schmp. 114–116°, während weitere Krystallisationen einen niedrigeren, unscharfen Schmelzpunkt ergaben, zum Teil schmierig waren. Für Cadalin-Pikrat wird der Schmp. 114–115° angegeben.

Die weiteren Krystallisationen und Ausscheidungen aus der Mutterlauge des Pikrats wurden vereinigt und mit Natronlauge behandelt, um den Kohlenwasserstoff zu regenerieren. Dieser wurde mit niedrig siedendem Petroläther aufgenommen. Die Lösung war gelb, grünlich fluoreszierend. Der Petroläther wurde abdestilliert, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und mit einer alkohol. Lösung von 0.1 g Trinitro-resorcin versetzt, wobei sofort eine intensive Rotfärbung auftrat. Die Lösung wurde kurz aufgeköcht. Beim Erkalten schieden sich gelbe Nadeln ab, die abgesaugt, aus Alkohol umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurden. Schmp. 119–123°. Für Eudalin-Styphnat wird der Schmp. 119–120° angegeben.

Vorstehende Arbeit wurde auf Anregung und mit Unterstützung von Hrn. Prof. Dr. F. Ehrlich ausgeführt; ich möchte nicht verfehlen, auch an dieser Stelle hierfür meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

83. D. Vorländer und Otto Koch: Die grünen Formen der *p*-Dioxy-dibenzalketone.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Halle.]

(Eingegangen am 9. Januar 1929.)

Von Zincke und Mühlhausen¹⁾ sind zuerst beim *p*-Dioxy-dibenzalacetone und von Vorländer²⁾ bei den *p*-Dioxy-dibenzalcykloketonen (-pentanon, -hexanon) grüne Formen aufgefunden worden, die entstehen, wenn man die dunkelvioletten oder blauschwarzen Hydrochloride oder -bromide der Art A mit kaltem Wasser zerlegt und auswäscht, bis das Waschwasser sich nicht mehr mit Silbernitrat trübt, und bis der grüne Rückstand halogenfrei ist (Beilstein-Probe). Die grünen Formen lassen sich dann durch Lösen in kaltem Alkohol und durch Ausspritzen mit Wasser umkrystallisieren, gehen indessen mit der Zeit in die gelben Formen über — wir wollen sie so bezeichnen, auch wenn sie orange gelb oder braun gelb aussehen. Eine allerdings sehr unbeständige grüne Form wurde ferner beim *p*-Dioxyazobenzol³⁾ beobachtet, und das gelbe, kaum aminisch reagierende *p*-Nitro-dimethylanilin gibt bei der Fällung mit Wasser aus stark saurer Lösung — auch wohl beim Umkrystallisieren — ein grünes Amin. Wenn man sieht, wie sich ein Körnchen des grünen *p*-Dioxy-dibenzalacetons in der 100–300-fachen Menge kaltem Essigsäure-anhydrid mit dunkelviolett-blauer Farbe auflöst⁴⁾, während das gewöhnliche gelbe Keton nur eine hellgelbe Lösung gibt, so wird man kaum im Zweifel sein, daß die grüne Verbindung nicht nur im festen, sondern auch im gelösten Zustande ihre Sonderexistenz hat.

1) B. 36, 129 [1903]. 2) B. 58, 124 [1925]. 3) B. 58, 1403 [1925]. 4) B. 58, 130 [1925].