

# **Universitäts- und Landesbibliothek Tirol**

## **Über das Saponin der Primulawurzel**

**Brauner, Wilhelmine**

**Innsbruck, 1926**

II. Untersuchungen über die Primulasäure

## II. Untersuchungen über die Primulasäure.

Zur Verwendung gelangte die kristallisierte Primulasäure, welche durch Elektro-Dialyse und Umkristallisieren aus 96%igem Alkohol vollständig gereinigt war.

Der Schmelzpunkt der Substanz liegt zwischen  $218^{\circ}$  und  $220^{\circ}$ . Er lässt sich allerdings nicht ganz scharf feststellen, denn bei ungefähr  $215^{\circ}$  beginnt sich die Substanz zu bräunen und bei  $218^{\circ}$  -  $220^{\circ}$  entsteht eine schaumige, dunkelbraune Flüssigkeit.

Die Primulasäure ist löslich in verdünnter Natronlauge, Kalilauge, Natrium- und Kaliumkarbonatlösung. Ammoniak, rauchender Salpetersäure, Eisessig, geschmolzenem Phenol und geschmolzenem Naphthalin. In 96%igem Aethylalkohol ist die Primulasäure in der Kälte schwer löslich, heiss dagegen im Verhältnis 1 : 220, in 70%igem Aethylalkohol kalt schwer, heiss 1 : 150. Methylalkohol löst kalt 1 : 300, heiss 1 : 50. Primulasäure ist unlöslich in Aether, Chloroform, Aceton, Essigäther, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther, verd. Mineralsäuren und geschmolzenem Kampfer.

Die Lösung von Primulasäure in 96%igem Alkohol reagiert schwach sauer, sie gibt mit Methylorange eine Gelbfärbung mit Methylrot eine Rosafärbung.

Mit Phenolphthalein oder Methylrot als Indikator lässt sich die Primulasäure gegen Laugen titrieren. Zur Ausführung der Titra-

tion mit Phenolphthalein wird die Substanz in Wasser aufgeschwemmt und nach dem Zusatz des Indikators mit  $\frac{n}{100}$  Natronlauge in der Hitze titriert. 0.1 g Primulasäure verbrauchen 8.6 ccm  $\frac{n}{100}$  Natronlauge. Mit Methylrot als Indikator in alkoholischer Lösung werden für 0.1 g Primulasäure 7.5 ccm  $\frac{n}{100}$  Natronlauge verbraucht.

Die Primulasäure ist linksdrehend. In Aethyl- und Methylalcohol gelöst ist

$$[\alpha]_{20} = -37.5^{\circ}$$

Die Bestimmung des Molekulargewichtes nach Beckmann mit Phenol ergab im Mittel 967. Das Aequivalentgewicht nach der Titration mit Phenolphthalein ist 1163. Worauf die Differenz zwischen dem durch Titration gefundenen Aequivalentgewicht und dem nach der kryoskopischen Methode gefundenen Molekulargewicht beruht, lässt sich vorläufige nicht sagen.

Nimmt man das Molekulargewicht nach dem durch Titration ermittelten Wert mit 1163 an, so lässt sich aus der früher mitgeteilten Elementaranalyse ( C 55.04%, H 8.03% und O 36.93% ) die Formel  $\begin{matrix} C & H & O \\ 54 & 94 & 27 \end{matrix}$  berechnen. Das dieser Formel entsprechende Molekulargewicht ist 1174.

Eine phenolische Hydroxylgruppe lässt sich in der Primulasäure nicht nachweisen. Alle zu ihrem Nachweis angestellten Reaktionen fielen negativ aus.

Die Primulasäure enthält eine Karboxylgruppe. Durch Einwirkung von Phosphortrichlorid oder Thionylchlorid entstehend eine Säure-

chlorid in Form einer öligen Flüssigkeit, aus dem die Primulasäure durch Zusatz von Wasser wieder frei gemacht werden kann. Durch Einleiten von Ammoniak lässt sich das Primulasäurechlorid in Amid überführen. Man erhält einen weissgelblichen Niederschlag, der sich aus Alkohol umkristallisieren lässt und dabei, weisse, würfelförmige Kristalle vom Schmelzpunkt  $134 - 135^{\circ}$  bildet. Durch Einwirkung von Salzsäure kann die Primulasäure wieder zurückgewonnen werden.

Die Primulasäure ist ferner im Stande Ester zu bilden. Doch gelang es nicht, die nach verschiedenen Methoden hergestellten Ester zu isolieren.

Durch Behandlung mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat lässt sich die Primulasäure acetylieren. Die Acetylverbindung wurde als weisses Pulver erhalten, das in Aethylalkohol, Methylalkohol, Aether, Essigäther, Chloroform, Aceton und Amylalkohol löslich, in Wasser und verdünnten Mineralsäuren unlöslich ist. Zur Verseifung von 1 g Acetylverbindung sind  $10.46 \text{ ccm } \frac{N}{2}$  Natronlauge erforderlich. Die Elementaranalyse ergab im Mittel C 57.55% und H 7.30%.

Die Hydrolyse der Primulasäure lässt sich mit Schwefelsäure, Salzsäure und Essigsäure durchführen. Am raschesten wirkt 5 - 10 %ige Schwefelsäure. Beim Erhitzen von Primulasäure mit 8%iger Schwefelsäure am Rückflusskühler lassen sich in der Flüssigkeit nach einer Viertelstunde reduzierende Zucker nachweisen. Die vollständige Abspaltung von Zucker gelingt mit 8%iger Schwefelsäure in 18 - 20 Stunden durch Erhitzen in einer Druckflasche im kochenden Wasser-

bad. Bei Verwendung von 5%iger Schwefelsäure ist eine Behandlung von 38 - 35 Stunden erforderlich.

Der Gehalt der Primulasäure an zuckerfreiem Saponin ist 40.80%.

Im Hydrolysat wurde Glukose, Glukuronsäure und Rhamnose gefunden.

Glukose wurde nachgewiesen durch Bildung eines Phenylosazons mit dem Schmelzpunkt 204 - 205° eine p - Bromphenylhydrazons mit dem Schmelzpunkt 148° und die Aldosen-Reaktion mit Bromwasser und Eisenchlorid und den Ausfall der Reaktion mit Ammoniummolybdat.

Fruktose ist nicht vorhanden.

Glukuronsäure wurde nachgewiesen durch den positiven Ausfall der Naphtoresorcin -Reaktion. Die Reaktion gelingt nicht nur im ursprünglichen Hydrolysat, sondern auch was mehr beweisend ist, nach Abtrennung von den Zuckern durch Fällung mit Baryumkarbonat. Ein weiterer Beweis für die Anwesenheit von Glukuronsäure ist das Auftreten von Furfurol beim Destillieren der Primulasäure mit Salzsäure.

Das Vorhandensein einer Methylpentose ist bewiesen durch den positiven Ausfall der Bial'schen Reaktion mit Orcin, der Reaktion von Rosenthaler mit Aceton und Salzsäure, die Reaktion von Oshima und Tollens mit Phloroglucin und die Entstehung von Methylfurfurol bei der Destillation mit Salzsäure. Dass es sich um Rhamnose handelt, geht aus der Bildung von Rhamnosephenylosazon hervor.

Das Saponin konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden. Eine Reinigung gelingt durch wiederholten Auflösen in Eisessig

und Ausfällen mit Wasser. Das so gereinigte Saponin ist ein gelbliches, amorphes Pulver.

Das Saponin ist löslich in 96%igem Alkohol, Aether, Aceton, Essigäther, Petroläther, Amylalkohol, Eisessig und geschmolzenem Kampfer; unlöslich dagegen in Wasser, verdünnten Mineralsäuren, Natronlauge Kalilauge, Natrium- und Kaliumkarbonatlösung.

Das Sapogenin besitzt keinen scharfen Schmelzpunkt. Bei 113° beginnt es sich die Substanz zu verfärben, wird dann allmählich immer dunkler braun, bei 125 - 127° schmilzt sie zu einer braunen Flüssigkeit.

Bei der Titration der alkoholischen Sapogeninlösung mit Phenolphthalein als Indikator werden für 0.1g Sapogenin 7.5 ccm  $\frac{n}{100}$  Natronlauge verbraucht.

Das Molekulargewicht des Sapogenins nach der Kampfermethode von Rast bestimmt ergab im Mittel 354.

Bei der Elementaranalyse wurde im Mittel C 75.11% und H 9.65% gefunden. Diese Werte lassen sich durch die Formel  $\overset{C}{20} \overset{H}{30} \overset{O}{3}$  ausdrücken. Dieser Formel entspräche das Molekulargewicht 318. Worauf diese Differenz beruht, konnte nicht festgestellt werden.

Eine phenolische Hydroxylgruppe lässt sich im Sapogenin nicht nachweisen. Für das Vorhandensein einer Carboxylgruppe spricht die Bildung eines Säurechlorids bei Einwirkung von Phosphortrichlorid oder Thionylchlorid und die Ueberführung desselben in Säureamid. Das Sapogenin ist ferner imstande, Ester zu bilden.

Das Sapogenin gibt deutliche Cholesterinreaktionen. Dies ist

ein neuer Beweis für die wiederholt ( vor kurzem von Windaus ) betonte nahe Verwandtschaft zwischen Sapogeninen und Cholesterin.

V e r s u c h s t e i l .

-----

Polarisation.

0.1 g Primulasäure wurden in 25 ccm 96%igem Alkohol gelöst und in einem 200 mm Rohr bei 20° untersucht. Die Lösung drehte - 0.30°

$$[\alpha]_D = \frac{0.30 \cdot 100}{0.4 \cdot 2} = 37.5^\circ$$

0.1 g Primulasäure wurde in 25 ccm Methylalkohol gelöst und in einem 200 mm Rohr untersucht bei 20°. Die Lösung drehte -0.30°

$$[\alpha]_D = \frac{0.30 \cdot 100}{0.4 \cdot 2} = 37.5^\circ$$

Bestimmung des Molekulargewichtes.

I. Bestimmung: Verwendet wurde Phenol ( Merck.)

24'02920gPhenol                      Depression = 0'74°

$$0'2327 \text{ g Primulasäure} \quad m = \frac{1000'0'2327}{24'0'0292} \cdot 72 = \underline{\underline{942}}$$

II. Bestimmung:

18'1300 g Phenol                      Depression = 0'73°

$$0'1826 \text{ g Primulasäure} \quad m = \frac{1000'0'1826}{18'1300} \cdot 72 = \underline{\underline{993}}$$

Der Mittelwert der beiden Molekulargewichte beträgt 967.

Reaktionen auf phenolische Hydroxylgruppen der  
 -----

Primulasäure.  
 -----

Eine kleine Menge Primulasäure wurde in Alkohol gelöst und mit Eisenchloridlösung versetzt. Es trat keine Färbung ein.

In eine Lösung von Kaliumnitrit in konz. Schwefelsäure wurde eine kleine Menge Primulasäure eingetragen. Es entstand eine braune Lösung, die sofort in Wasser gegossen wurde. Dabei bildete sich ein schwach grüner Ring neben der braunen Flüssigkeit, beim Verrühren verschwand aber der Ring und die wässrige Flüssigkeit blieb gleichmässig gelblich.

Eine kleine Menge Primulasäure wurde in Natronlauge gelöst. In die Lösung wurde 4 Stunden hindurch Kohlendioxyd eingeleitet. Die Saponinlösung blieb während des Einleitens und auch nach längerem Stehen klar.

Eine kleine Menge Primulasäure wurde mit etwas Phtalsäureanhydrid und Wasser auf dem Wasserbad erhitzt und mit Natronlauge versetzt. Es trat keine Fluoreszenz ein.

Es waren daher alle zum Nachweis einer freien phenolischen Hydroxylgruppe angestellten Reaktionen negativ.

Nachweis einer Carboxylgruppe in der Primulasäure.  
 -----

Bildung von Säurechlorid und Säureamid.

Primulasäure wurde mit Phosphortrichlorid schwach erwärmt. Es

trat lebhaftere Reaktion ein. Nach einiger Zeit färbte sich die Flüssigkeit gelb und dann bildete sich ein gelblicher, schmieriger Niederschlag. Das ganze Reaktionsprodukt wurde in viel Wasser gegossen. Es trat ziemlich starke Reaktion ein und schon nach kurzer Zeit fiel ein weißer Niederschlag aus. Nach dem Abfiltrieren, Waschen und Trocknen bildete der Niederschlag ein weißes Pulver, das sich als Primulasäure erwies. Die Primulasäure lässt sich also aus dem Säurechlorid wieder leicht regenerieren.

Dasselbe Resultat wurde bei Anwendung von Thionylchlorid erhalten. Zur Gewinnung von Säureamid ging ich in folgender Weise vor: Primulasäure wurde mit Phosphortrichlorid einige Stunden stehen gelassen. Hierauf wurde das Phosphortrichlorid abgesaugt und das Säurechlorid wiederholt mit Aether gereinigt, wobei der Aether jedesmal scharf abgesaugt wurde. In das so gereinigte ölige Säurechlorid wurde trockenes, gasförmiges Ammoniakgas eingeleitet. Es bildete sich schon während des Einleitens eine gelblichweiße Substanz, die dann weiter mit Aether gereinigt wurde.

Das so gewonnene Säureamid war in 96%igem Alkohol schwer löslich, in Aether und Kalilauge unlöslich. Beim Zusatz von Wasser trat keine Lösung ein, auch beim Kochen nicht und Ammoniak wurde nicht frei. Erst beim Zusatz von Natronlauge und Kochen trat Lösung ein und gleichzeitig wurde Ammoniak frei. Zusatz von Salzsäure zu dieser Lösung bewirkte das Ausfallen eines weißen Niederschlages, der sich als Primulasäure erwies.

Ein Teil der Säureamide wurde aus Alkohol umkristallisiert. Dabei entstanden grosse weisse, würfelförmige Kristalle, die bei  $112^{\circ}$  sich schwach gelb färbten und bei  $134-135^{\circ}$  schmolzen. Die Kristalle waren nicht sublimierbar.

Die aus Alkohol gewonnenen Kristalle lösten sich in heissem Wasser auf und beim Kochen wurde Ammoniak frei. Zusatz von Salzsäure fällte Primulasäure aus.

Es handelt sich hier also um Primulasäureamid. Beim Kochen mit Lauge tritt Verseifung ein, dabei wird Primulasäure frei, geht aber als Natriumsalz in Lösung. Durch Zusatz von Salzsäure wird die Primulasäure aus ihrem Salz ausgefällt. Merkwürdig ist das verschiedene Verhalten des amorphen und des kristallisierten Amide in Bezug auf Löslichkeit und Verseifbarkeit.

Um zu zeigen, dass es sich bei dieser Substanz nicht etwa um das Ammoniumsalz der Primulasäure handle, stellte ich zum Vergleich das Ammoniumsalz her durch Auflösen von Primulasäure in Ammoniak und Verdampfenlassen der Flüssigkeit. Das Salz wurde aus Alkohol umkristallisiert. Es wurde bei  $170^{\circ}$  gelbbraun, bei  $195-197^{\circ}$  dunkelbraun ohne zu schmelzen.

#### Versuche zur Gewinnung von Estern der Primulasäure.

Eine kleine Menge Primulasäure wurde in Methylalkohol gelöst, mit konz. Schwefelsäure versetzt, und das Reaktionsprodukt zur Neutralisation auf fein zerriebene Kristallsoda gegossen. Dann wurde die

Sodamasse mit Aether ausgezogen und abfiltriert. Der Aether wurde mit gerbanntem Gips entwässert, abfiltriert und abgedampft. Es blieb ein öliger, gelbbrauner Rückstand zurück, der beim Stehen fest wurde. In Aether und Alkohol war die Substanz löslich.

Primulasäure wurde mit Dimethylsulfat erhitzt bis Dunkelviolett färbung eintrat. Ein Teil der Flüssigkeit wurde mit Methylalkohol aufgenommen und stehen gelassen. Es bildete sich nach einiger Zeit ein gelbbrauner Niederschlag der in Aether und Alkohol löslich war. Ein Teil dieses Niederschlages wurde mit verdünnter Natronlauge aufgenommen und ebenfalls stehen gelassen. Es schied sich dabei ein gelbbrauner Niederschlag ab, der in Alkohol vollständig und in Aether zum grössten Teil löslich war.

Lässt man Dimethylsulfat nur schwach auf Primulasäure einwirken, so erhält man kein Reaktionsprodukt. Etwas Primulasäure wurde in Kalilauge gelöst, mit einigen Tropfen Dimethylsulfat versetzt und kurze Zeit am Wasserbad erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion wurde mit Wasser verdünnt. Es bildete sich dabei kein Niederschlag.

Eine kleine Menge Primulasäure wurde in Methylalkohol gelöst mit Thionylchlorid versetzt und erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Thionylchlorid abgesaugt. Es hinterblieb ein gelbbrauner Niederschlag, der sich in Alkohol und zum Teil auch in Aether löste. Versuche, den Niederschlag zur Kristallisation zu bringen, gelangen nicht.

Eine kleine Menge Primulasäure wurde mit Thionylchlo-

rid erwärmt und nach Beendigung der Reaktion wurde das Thionylchlorid abgesaugt, der Rückstand wurde mit Phenol versetzt und stehen gelassen. Nach einiger Zeit bildete sich eine braungelbe Substanz, die in Alkohol vollständig und in Aether zum Teil löslich war. Versuche, den Niederschlag zur Kristallisation zu bringen, gelangen nicht.

Primulasäure wurde mit Thionylchlorid erwärmt und nach Beendigung der Reaktion das Thionylchlorid abgesaugt. Der Rückstand wurde mit Phenol versetzt und stehen gelassen. Nach einiger Zeit bildete sich eine braungelbe Substanz die in Alkohol vollständig und in Aether teilweise löslich war.

m- Oxybenzoesaures Methyl wurde mit Phenol erwärmt, mit Primulasäure versetzt und weiter erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Flüssigkeit abgesaugt. Es hinterblieb ein gelbbrauner Rückstand, der in Alkohol vollständig, in Aether teilweise löslich war.

Endlich wurde Primulasäure mit Methylalkohol, Phosphortrichlorid und Phenol in der Wärme behandelt. In beiden Fällen trat deutliche Reaktion ein, doch schied sich beim Weiterbehandeln mit Alkohol oder Aether ein weisslicher Niederschlag ab.

Es gelang also die Primulasäure mit Methylalkohol, Dimethylsulfat und Phenol zur Reaktion zu bringen, doch war es nicht möglich, die gebildeten Ester zu isolieren.

Acetylverbindung der Primulasäure.  
 -----

1 g Primulasäure wurde mit 1 g wasserfreiem ( geschmolzenem ) Natriumacetat und mit 20 g Essigsäureanhydrid versetzt und in einem Kolben mit eingeschliffenem Rückflusskühler 4 Stunden auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Es entstand dabei eine gelblichweisse dickliche Flüssigkeit, die nach dem Erkalten unter stetigem Rühren in viel Wasser gegossen und  $1\frac{1}{2}$  Stunden stehen gelassen wurde. Es bildete sich eine weissgelbliche, flockige Masse, die auf einem Filter gesammelt und solange mit Wasser gewaschen wurde, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagierte. Hierauf wurde im Vakuum über Calciumchlorid getrocknet. Nach dem Behandeln mit Alkohol war die Acetylverbindung ein weisses, amorphes Pulver, das in Aethylalkohol, Methylalkohol, ~~Ätheracetatus~~, Chloroform, Aceton- und Amylalkohol löslich, in Wasser und verdünnten Mineralsäuren unlöslich war.

Zur Verseifung wurden 0'1513 g Acetylsaponin in einem Kölbchen mit 5 ccm 96%igem Alkohol versetzt und nach Zusatz einiger Tropfen alkoholischer Phenolphthaleinlösung vorsichtig mit  $\frac{n}{2}$  Natronlauge neutralisiert. Nach dem Abstumpfen der Säure, wozu nur einige Tropfen notwendig waren, wurden 15 ccm  $\frac{n}{2}$  Natronlauge zugegeben und das Kölbchen mit aufgesetztem Steigrohr eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde die Flüssigkeit erkalten gelassen, mit 50 ccm Wasser versetzt und der Ueberschuss der Lauge mit  $\frac{n}{2}$  Salzsäure zurücktitriert. Es wurden 1.6 ccm  $\frac{n}{2}$  Natronlauge zur Verseifung verbraucht. Zur Verseifung von 1 g Acetylsaponin sind demnach 10.46 ccm  $\frac{n}{2}$  Natronlauge erforderlich.

Die Elementaranalyse der Acetylverbindung nach Pregl ergab:

1. 3.886 mg Substanz gaben	2.550 mg H <sub>2</sub> O .... 7.3% H
	8.200 mg CO <sub>2</sub> .... 57.5% C
2. 4.456 mg Substanz gaben	2.900 mg H <sub>2</sub> O .... 7.3% H
	9.400 mg CO <sub>2</sub> .... 57.6% C

im Mittel also C 57.55% und H 7.3%

#### Hydrolyse der Primulasäure.

.....

Von Mineralsäuren wurde mit Schwefelsäure und Salzsäure, von organischen Säuren mit Essigsäure zu spalten versucht.

Am raschesten wirkt 8 - 10%ige Schwefelsäure. Erhitzt man Primulasäure mit ungefähr 8%iger Schwefelsäure auf dem kochenden Wasserbad, so reduziert die Flüssigkeit nach einer Viertelstunde Fehlingsche Lösung. Die vollständige Abspaltung der Zucker gelingt mit 8%iger Schwefelsäure in 18 bis 20 Stunden durch Erhitzen in einer Druckflasche mit dem kochendem Wasserbad. 5%ige Schwefelsäure spaltet zwar langsamer, aber ebenfalls vollständig. Erhitzt man Primulasäure mit 5%iger Schwefelsäure in einer Druckflasche, so ist die Abspaltung der Zucker in 33 bis 35 Stunden beendet. 2 - 3 %ige Schwefelsäure spaltet schon nicht mehr vollständig oder wenigstens erst in sehr langer Zeit. Es wurde Primulasäure mit 2-3%iger Schwefelsäure 45 Stunden in einer Druckflasche auf dem kochenden Wasserbade erhitzt, ohne dass vollständige Hydrolyse erfolgte.

Der Rückstand wurde nun im Bombenrohr mit 5 - 6 %iger Schwefelsäure 3 Stunden auf 130° erhitzt. Erst dann liess sich der grösste Teil der Glukuronsäure nachweisen.

Es wurde auch versucht, die Primulasäure in alkoholischer Lösung mit Schwefelsäure zu hydrolysieren. Dieses Vorgehen bewährte sich jedoch nicht, da ein harziger, klebriger Rückstand entsteht.

Salzsäure spaltet etwas langsamer als Schwefelsäure, das Hydrolysat wirkt erst nach 25 - 30 Minuten reduzierend. Vollständige Hydrolyse wurde mit Salzsäure nicht versucht.

Beim Erhitzen von Primulasäure mit verd. Essigsäure konnten nach ungefähr 1½ Stunden reduzierende Zucker nachgewiesen werden.

Im Folgenden wurde für die Durchführung der Hydrolyse in der Regel 5-6%ige Schwefelsäure verwendet.

Quantitative Bestimmung des Sapogenins.

I. Bestimmung:

1'3720 g Saponin wurde einmal entsprechend lang hydrolysiert, abfiltriert, mit heissem Wasser gewaschen und samt dem vorher gewogenen Filter gewogen.

1'3720 g Primulasäure ergaben 0'5605 g Sapogenin.

Das Sapogenin wurde im Vakuum getrocknet. Der Sapogeningehalt beträgt: 40'80%.

II. Bestimmung:

1'0791 g Primulasäure wurde entsprechend lang hydrolysiert.

1'0791 g Primulasäure ergaben 0'4442 Sapogenin.

Der Sapogeningehalt beträgt 41'10%.

Zuckerreaktionen.  
-----

3g Primulasäure wurden mit 5%iger Schwefelsäure in der Druckflasche ungefähr 35 Stunden hydrolysiert, hierauf abfiltriert und der Rückstand mit heissem Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde mit Baryumkarbonat im Ueberschuss neutralisiert und unter stetem Rühren zur Trockene eingedampft. Die Baryumcarbonatmasse wurde dann 5 mal mit 90%igem Alkohol ausgekocht und jedesmal scharff abgesaugt. Die mittels Alkohol ausgezogene Baryumcarbonatmasse, die die Aldehydsäuren als Baryumsalz enthält, wurde zur weiteren Prüfung aufgehoben.

Die vereinigten Alkoholfiltrate wurden bis auf einige ccm auf dem Wasserbad eingedampft. Die eingeengte Flüssigkeit wurde mit 96%igem Alkohol aufgenommen und von dem dabei ausgefallenen Niederschlag abfiltriert, mit etwas Tierkohle entfärbt, bis auf einige ccm eingeengt und nochmals mit 96%igem Alkohol behandelt. Mit dem so erhaltenen Syrup wurden folgende Versuche angestellt.

Aldose-Reaktion nach Berg ( Van der Haar ): Einige Tropfen des Syrups wurden mit ungefähr 5 ccm Bromwasser versetzt und im Wasserbad einige Minuten auf 50 - 60° erwärmt. Dann wurde rasch das Brom

weggekocht und der farblosen Flüssigkeit cca 5 ccm Eisenchloridlösung und 2 Tropfen Salzsäure zugesetzt. Die Flüssigkeit wurde sogleich dunkelgelb.

Die Seliwanoff'sche Reaktion ( in der Modifikation von Rosin ):

Einige Tropfen des Syrups wurden in einer Epruvette mit 2 ccm konz. Salzsäure und einigen Körnchen Resorcin versetzt und im Wasserbad bis zur Rotfärbung erhitzt. Nach dem Erkalten wurde soviel festes Natriumcarbonat zugesetzt, bis kein Aufbrausen mehr erfolgte. Die Flüssigkeit wurde zuerst heller, orangefarben, sobald das Aufbrausen aber zu Ende war, wurde die Flüssigkeit violettrosa. Es wurde hierauf mit Amylalkohol ausgeschüttelt, dieser färbte sich violettrosa. Im Spektrum war ein Streifen im Grün ( 510 - 515 ) und ein Streifen zwischen Rot und Gelb ( 570 - 580 ) zu sehen. Die Reaktion schien anfangs beweisend für Fruktose. Später führte dieselbe Reaktion zum Vergleich sowohl mit einer Rhamnoselösung als auch mit Arabinoselösung<sup>aus</sup>. In beiden Fällen fiel die Reaktion so aus wie mit dem Hydrolysat aus Primulasäure, nur bei Arabinose war der Streifen zwischen Gelb und Rot schwächer.

Reduktion der Fehlingschen Lösung: Einige Tropfen des Syrups

wurden in der Kälte mit Fehlingscher Lösung gemischt, Nach ungefähr 1 - 1 1/4 Stunden trat Reduktion ein. Zum Vergleich wurde Glukoselösung und Fruktoselösung in der Kälte mit Fehlingscher Lösung gemischt. Bei der Glukoselösung trat nach ungefähr 1 Stunde, bei der Fruktoselösung nach ungefähr 1/2 - 3/4 Stunden Reduktion ein. Die

Reaktion spricht daher eher gegen das Vorhandensein von Fruktose.

Einige Tropfen des Syrups wurden mit mehreren ~~ccm~~ Alkohol-  
Schwefelsäure ( 7.5 ccm Alkohol 2 ccm konz. Schwefelsäure ) und 2 Tro-  
pfen einer 5%igen alkoholischen Naphthollösung gemischt, Beim Erwärmen  
im Wasserbad trat schon nach 1-2 Minuten eine schmutziggrüne Färbung  
auf. Nach Pinoff müsste bei dieser Reaktion bei Gegenwart von Fruktose  
nach höchsten 3 Minuten Violettfärbung auftreten. In gegebenem Fall ge-  
stattet der Ausfall der Reaktion keinen Schluss auf die Anwesenheit  
von Fruktose, sie spricht aber auch nicht dagegen.

Nach den Angaben von Pinoff und Cude wurden 3 g gepulvertes  
Ammoniummolybdat in 2.5 ccm Wasser in der Siedehitze gelöst, auf un-  
gefähr 40° abgekühlt. Zu dieser Lösung wurde ein ccm Syrup, der mit  
2 ccm Wasser verdünnt war, hinzugefügt. Die Flüssigkeit wurde bei  
40 - 45° auf dem Wasserbad gehalten. Nach 10 - 15 Minuten trat  
schwache Blaufärbung auf.

Derselbe Versuch wurde mit einer hydrolysierten Rohrzucker-  
lösung und einer reinen Glukoselösung gemacht, nach 10 - 15 Minuten  
war die Lösung, die Fruktose enthielt, intensiv blau gefärbt, dagegen  
die Flüssigkeit, die nur Glukose enthielt nur schwach blau. Die Kon-  
zentration der Vergleichslösungen war so gewählt, dass sie schätzungs-  
weise dem Syrup aus Primulasäure entsprach. Fruktose ruft bei dieser  
Reaktion also intensive Blaufärbung hervor. Die einzige Zuckerart,  
die ebenfalls eine Blaufärbung, allerdings in geringerem Grade erzeugt,  
ist Glukose. Die Reaktion spricht also gegen das Vorhandensein von

Fruktose und für das Vorhandensein von Glukose im Hydrolysat der Primulasäure.

Naphtoresorcin-Reaktion: Einige Tropfen des Syrups wurden mit 2 ccm konz. Salzsäure, 2 ccm Wasser und 1 ccm einer 1%igen Naphtoresorcinlösung versetzt und 10 - 15 Minuten am Wasserbad erhitzt, wobei sich ein Niederschlag bildete. Nach dem Erkalten wurde abfiltriert. Der Niederschlag wurde auf dem Filter mit Wasser gut gewaschen und dann mit 96%igem Alkohol aufgenommen. Es trat zuerst eine schwache Violettfärbung auf, die aber rasch in Braunfärbung überging. Die Reaktion fiel also nicht eindeutig aus, aber jedenfalls spricht sie gegen die Anwesenheit von Fruktose, denn Fruktoselösung müsste bei Zusatz von Salzsäure und Naphtoresorcin intensive Rotfärbung hervorrufen.

Die Biäl'sche Reaktion: 1 - 2 ccm Reagenz ( bestehend aus 0.1 g Orcin in 50 ccm konz. Salzsäure 4 - 5 Tropfen Eisenchloridlösung ) wurde zum Kochen erhitzt und hierauf einige Tropfen des Syrups zugesetzt. Es entstand eine grünbraune Färbung die beim Ausschütteln mit Amylalkohol in diesen überging. Die Reaktion spricht für Methylpentosen oder Aldehydsäuren.

Reaktion auf Methylpentosen nach Rosenthaler: Einige Tropfen des Syrups wurden mit 5 ccm konz. Salzsäure und 1 - 2 ccm reinem Aceton 10 Minuten am Wasserbad erhitzt. Die Flüssigkeit wurde himbeerrot und behielt diese Farbe viele Stunden hindurch unverändert bei. Im Spektroskop zeigte sich ein Band, dass die Natrium-Linie bedeckte. Diese Reaktion ist eindeutig auf Methylpentosen.

Einige Tropfen des Syrups wurden mit 2 ccm konz. Salzsäure und einer Spur Phloroglucin gemischt und einige Minuten am Wasserbad erhitzt. Es entstand eine Rotfärbung, die sofort in Rotbraun überging. Gleichzeitig bildete sich ein rotbrauner Niederschlag.

Glukose - Phenylosazon.  
-----

3 g Primulasäure wurde 13 Stunden in der Druckflasche mit 5%ger Schwefelsäure/ hydrolysiert. Aus dem Hydrolysat wurde in der früher angegebenen Weise durch Neutralisation mit Baryumcarbonat ein Syrup gewonnen.

Dieser Syrup wurde mit einem Teil Phenylhydrazin-Hydrochlorid und drei Teilen Natriumacetat 1½ Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Dabei entstand ein orangeroter Niederschlag. Bei der Behandlung dieses Niederschlages mit Aceton löste sich ein Teil zu einer orangefarbenen Flüssigkeit, ein Teil wurde als hellgelber kristallinischer Rückstand erhalten. Die hellgelben Kristalle wurden aus Alkohol umkristallisiert und im Vakuum getrocknet. Der Schmelzpunkt des Osazons war 208°.

Bei einem zweiten Versuch wurde die Primulasäure nur 9 Stunden hydrolysiert unter der Annahme, dass bei kürzerer Hydrolyse weniger Rhamnose und Glukuronsäure abgespalten werde. Das gewonnene Osazon wurde ebenfalls mit Aceton und dann durch umkristallisieren aus Alkohol gereinigt. Der Schmelzpunkt war 204 - 205°.

Glukose - Bromphenylhydrazon.  
-----

Ein Teil des aus dem Hydrolysat der Primulasäure hergestellten Syrups wurde mit einer Lösung <sup>von</sup> 0.5 g p-Bromphenylhydrazin in 6 ccm Wasser und 2 ccm 50%iger Essigsäure gemischt und stehen gelassen. Nach mehrtägigem Stehen bildete sich ein Niederschlag, der gesammelt ; aus verdünntem Alkohol umkristallisiert und im Vakuum getrocknet wurde. Das Hydrazon bestand zum grössten Teil, aus kurzem Nadelchen, die in Alkohol und heissem Wasser löslich, in kaltem Wasser unlöslich und in Aether schwer löslich waren. Der Schmelzpunkt war 148°.

Nachweis von Furfurol und Methylfurfurol bei der  
-----

Destillation mit Salzsäure.  
-----

0.2 g Primulasäure wurde nach dem Verfahren von Tollens mit Salzsäure vom spez. Gew. 1.06 überdestilliert und mit Phloroglucin gefällt. Es entstand ein grünschwarzer Niederschlag. Die letzten Destillate zeigten mit Phloroglucin-Salzsäure Rotfärbung ohne Bildung eines Niederschlages.

Der getrocknete Phloroglucidniederschlag löste zum grössten Teil sich in 96%igem Alkohol mit rothrauner Farbe auf.

Der Versuch ergab also die gleichzeitige Anwesenheit von Methylfurfurol und Furfurol. Die rote Farbe des Methylfurfurolphloroglucids wird durch die dunkelgrüne Färbung des Furfurolphloroglucids

verdeckt. Die Bildung von Furfural bei der Destillation der Primulasäure mit Salzsäure ist auf die Anwesenheit von Glukuronsäure, die Bildung von Methylfurfural auf die Anwesenheit einer Methylpentose zurückzuführen.

Bei einem zweiten Versuch wurde ebenfalls Primulasäure mit Salzsäure vom Spez. Gew. 1.06 überdestilliert. Mit dem Destillat wurden folgende Reaktionen angestellt:

Einige Tropfen des Destillates wurden mit einigen Tropfen Anilin und gleichviel konz. Essigsäure gemischt. Die Flüssigkeit wurde intensiv rot.

Ein Teil des Destillates wurde mit dem gleichen Volumen konz. Salzsäure und einigen Körnchen Resorcin im Wasserbad erhitzt. Es trat zuerst eine gelbbraune Färbung ein, die gleich über Grün- in Violettfärbung überging. Nach ungefähr einer Stunde bildete sich ein violetter Niederschlag. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat war lichtrot gefärbt, und zeigte im Spektrum einen Streifen zwischen der H und G<sub>2</sub>-Linie.

Dieser zweite Versuch zeigt ebenfalls die Entstehung von Methylfurfural und Furfural bei der Destillation der Primulasäure mit Salzsäure.

#### Rhamnoseosazon.

-----

In einem in der beschriebenen Weise mit Baryumkarbonat neutralisierten Syrup wurden durch Zusatz von Phenylhydrazinhydrochlorid

Osazone erzeugt. Die entstandenen Osazone wurden auf dem Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die orangefarbene Masse gab beim Ausziehen mit kaltem Aceton eine rote Lösung, während ein gelber Rückstand ungelöst blieb. Die Acetonlösung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand wiederholt aus verdünntem Alkohol umkristallisiert. Dabei wurde ein goldgelbes aus kleinen Nadelchen bestehendes Osazon erhalten, das in Alkohol und Aceton löslich war.

Der Schmelzpunkt war nicht ganz scharf und lag bei ungefähr 175°. Es handelt sich um Rhamnoseosazon. Dass der für Rhamnoseosazon in der Literatur angegebene Schmelzpunkt nicht ganz erreicht wurde, hängt wohl damit zusammen, dass das Rhamnoseosazon nicht ganz rein war und wohl noch etwas Glukoseosazon enthielt.

#### Nachweis der Glukuronsäure.

-----

Die Baryumcarbonatmasse, die wie oben angegeben mittelst 90%igem Alkohol von den Zuckern getrennt worden war, wurde mit heissem Wasser ausgelaugt. Das Filtrat wurde solange mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, bis in einer kleinen Menge des Filtrates kein Baryumsulfat mehr ausfiel. Dann wurde die überschüssige Schwefelsäure mit Bleiacetat gefällt. Das Filtrat wurde mit basischem Bleiacetat versetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Der Niederschlag wurde nach dem Filtrieren in konz. Schwefelsäure gelöst und mit 1 ccm einer 1%igen Naphtoresorcini-lösung versetzt und eine Vier-

telstunde am kochenden Wasserbad gehalten. Nach dem Abkühlen wurde mit Benzol ausgeschüttelt. Die Benzollösung war rotviolett gefärbt und zeigte im Spektrum einen Absorptionsstreifen zwischen Gelb und Grün.

Ein weiterer Beweis für das Vorhandensein von Glukuronsäure ist die schon besprochene Bildung von Furfurol bei der Destillation der Primulasäure mit Salzsäure.

#### Das Sapogenin der Primulasäure.

-----

Das bei der Hydrolyse der Primulasäure erhaltene Sapogenin wurde mit heissem Wasser gewaschen und zur Kristallisation zu bringen versucht. Alle diese Versuche waren aber vergeblich.

Das Sapogenin wurde in Aceton gelöst und stehen gelassen. Schon nach kurzer Zeit schied sich am Rand der Schale eine zähe Masse ab. Nach dem vollkommenen Verdunsten des Acetons verblieb eine gelbbraune, amorphe Masse.

Sapogenin wurde in Aceton gelöst und mit Wasser ausgefällt. Neben einem gelblichweissen, feinen Niederschlag bildete sich eine braune, ölige Substanz, die beim Trocknen fest wurde.

Sapogenin wurde in Aether gelöst und stehen gelassen. Es schied sich eine gelbbraune, amorphe Substanz ab.

Sapogenin wurde einmal in kaltem 96%igem Alkohol und eine andere Probe in kochendem 96%igem Alkohol gelöst. In beiden Fäl-





Versuche das Sapogenin zu verestern.  
-----

Ebenso wie bei der Primulasäure wurden beim Sapogenin bei den Veresterungsversuchen Reaktionsprodukte erhalten. Die Ester waren ölige und harzige Massen, welche nicht weiter charakterisiert werden konnten.

Sapogenin wurde in Methylalkohol gelöst und mit konz. Schwefelsäure versetzt. Das Reaktionsprodukt wurde zur Neutralisation auf Kristallsoda gegossen. Die neutralisierte Sodamasse wurde mit Aether ausgeschüttelt, der Aether abgegossen, mit gebranntem Gips entwässert, filtriert und abgedampft. Es blieb eine gelbbraune, amorphe Masse zurück. Dieselbe wurde in Alkohol gelöst und schied sich beim Verdampfen des Alkohols als ölige, harzige Substanz ab, die bei längerem Stehen fest wurde.

In eine methylalkoholische Lösung von Sapogenin wurde trockene Chlorwasserstoffsäure eingeleitet. Die Flüssigkeit wurde dabei dunkler und trübte sich schwach.

Sapogenin wurde mit Dimethylsulfat erwärmt und Methylalkohol und Kalilauge versetzt. Es schied sich ein braungelber Niederschlag ab, der in Aether teilweise löslich war. Nach dem Abdampfen des Aethers blieb eine ölige Masse zurück, die beim Stehen fest wurde.

Sapogenin wurde mit Dimethylsulfat und Kalilauge gemischt und nach kurzem schwachen Erwärmen stehen gelassen. Nach einiger Zeit hatte sich ein brauner Niederschlag abgeschieden, der in Alkohol vollständig,

in Aether nahezu vollständig löslich war.

Sapogenin wurde in Methylalkohol gelöst , mit Dimethylsulfat versetzt und schwach erwärmt. Die Lösung blieb klar. Erst beim Hinzugeben von Kalilauge und Erwärmen auf dem Wasserbad trat Reaktion ein, wobei sich die Flüssigkeit trübte unter Bildung eines braunen Niederschlages. Der Niederschlag war in Alkohol und Aether löslich.

Reaktionen auf eine phenolische Hydroxylgruppe des  
-----  
Sapogenins.  
-----

Die zum Nachweis einer möglicherweise vorhandenen phenolischen Hydroxylgruppe angestellten Reaktionen waren negativ.

Eine kleine Menge Sapogenin wurde in Alkohol gelöst und mit Eisenchlorid versetzt. Es entstand keine Färbung.

Zu einer Lösung von Kaliumnitrit wurde eine kleine Menge Sapogenin gegeben und die braune Flüssigkeit in Wasser gegossen. Es entstand keine Färbung.

Cholesterinreaktionen des Sapogenins.  
-----

Eine Lösung von Sapogenin in Chloroform wurde mit dem gleichen Volumen konz. Schwefelsäure versetzt und umgeschüttelt. Die Chloroformlösung färbte sich dabei zuerst blutrot, dann purpurrot; die Schwefelsäureschichte zeigte schwach grüne Fluoreszenz.

Zur Lösung einer kleinen Menge Sapogenin in 10 ccm Chloroform

wurden 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und 1 Tropfen konz. Schwefelsäure zugesetzt. Die Flüssigkeit färbte sich zuerst violett und gleich darauf grün. Bei Verwendung von 20 Tropfen Essigsäureanhydrid und 3-4 Tropfen konz. Schwefelsäure färbte sich die Flüssigkeit zuerst rot, dann dunkelviolett und zeigte starke grüne Fluoreszenz.

Eine kleine Menge Sapogenin wurde mit Trichloressigsäure erwärmt. Es trat eine lichtrote, in himbeerrot übergehende Färbung auf.

Sapogenin wurde in Eisessig gelöst und mit wenig Acetylchlorid und wasserfreiem Zinkchlorid 2-3 Minuten gekocht. Die Flüssigkeit färbte sich dabei gelbbrot und zeigte eine stark gelbgrüne Fluoreszenz.