

Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Über das Saponin der Primulawurzel

Brauner, Wilhelmine

Innsbruck, 1926

Einleitung

U e b e r d a s S a p o n i n d e r P r i m u l a -
.....

W u r z e l .
.....

Von M i n n a B r a u n e r . [1926]

(Aus dem pharmakognöstischen Institut der Universität Innsbruck.)

In einer früheren Mitteilung berichtete Kofler über die Darstellung und die wichtigsten Eigenschaften der kristallisierten Primulasäure, dem Saponin aus der *Primula veris*. In Fortsetzung dieser Arbeiten wurde nun auch die *Primula elatior* genauer untersucht.

Dies schien umso mehr notwendig als die derzeit im Handel erhältliche *Radix Primulae* fast ausschliesslich aus Rhizomen und Wurzeln von *Primula elatior* besteht. Wie schon früher mitgeteilt wurde, lassen sich die beiden Arten mikroskopisch leicht unterscheiden. Die Rhizome von *Primula elatior* enthalten nämlich im Mark und in der primären Rinde einzeln und in grösseren Gruppen liegende Steinzellen, bei *Primula veris* fehlen diese Steinzellen. Ferner besitzen die Wurzeln von *Primula elatior* eine mehr braune, die von *Primula veris* eine mehr gelbe oder fast weisse Farbe. Bei einiger Uebung gelingt es, aus einem Gemisch von unzerkleinerter *Veris* - und *Elatior*-Droge die beiden Arten zu trennen. Für die folgenden Versuche wurden teils selbst gesammelte, teils aus zuverlässiger Quelle stammende Drogen verwendet. Ausserdem wurden die Drogen mikroskopisch geprüft.

Das Saponin von *Primula elatior*.

Zunächst benützte ich das für die Gewinnung der ^{Primulasäure} aus *Primula veris*

angegebene Verfahren. Dabei wird die Droge mit heissem 70%igem Alkohol extrahiert, filtriert und der Alkohol unter allmählichem Zusatz von Wasser vertrieben. Der dabei entstandene Niederschlag wird in Alkohol gelöst, mit Tierkohle entfärbt und neuerdings mit Wasser ausgefällt. Die letzte Reinigung erfolgt durch Elektro - Dialyse und Umkristallisieren aus 96%igem Alkohol.

Bei der Elatior-Droge entsteht nun beim Zusatz von Wasser zum alkoholischen Drogenauszug auch ein Niederschlag. Während bei der Veris-Droge dieser Niederschlag aber kristallinisch ist und sich leicht abfiltrieren lässt, ist der Niederschlag bei der Elatior-Droge gallertig und nur sehr schwer filtrierbar. Durch Tierkohle lässt sich beim Elatior - Saponin keine vollständige Entfärbung erzielen. Das Saponin bleibt auch nach mehrmaliger verlustreicher Behandlung mit Tierkohle dunkel gefärbt.

Die so gewonnene Substanz wurde durch Zusatz von Natronlauge in wässrige Lösung gebracht und der Elektro-Dialyse unterworfen. Dabei schied sich auf der Anodenseite eine gallertartige Masse ab. Durch Behandeln mit 96%igem Alkohol wurde eine gelblich-weiße, amorphe Substanz erhalten.

Trotz zahlreicher Versuche mit verschiedenen konzentriertem Aethylalkohol und anderen Lösungsmitteln gelang es aber niemals, dieses Elatior-Saponin zur Kristallisation zu bringen.

Das Saponin ist unlöslich in Wasser, Aether, Chloroform, Aceton, Benzol, Essigäther, löslich in Natron- und Kalilauge, Alkalikarbonatlösung, Aethyl- und Methylalkohol. Die mit Alkalien hergestellten wässrigen Lösungen geben beim Schütteln einen reichlichen Schaum. Aus diesen

Lösungen wird das Saponin durch konzentrierte Kochsalzlösung ausge-salzen, nicht aber durch Ammoniumsulfat.

Der hämolytische Index des Elatior-Saponins ist ungefähr um 50% höher als der der Primulasäure.

Bei 218° wird das Elatior-Saponin gelbbraun, bei $224-225^{\circ}$ ^{1-222°} schmilzt es unter Zersetzung.

Löst man das Saponin in verdünnter Natriumkarbonatlösung oder in verdünnter Natronlauge und kocht diese Lösung am Rückfluss-kühler oder in einem Dampfsterilisator ^{circa einen Viertel}lang, so scheidet sich ein aus weissen, nadelförmigen Kristallen bestehender Niederschlag aus. Beim Behandeln mit Kaliumkarbonat oder Kalilauge entsteht kein der-artiger Niederschlag.

Löst man dagegen Primulasäure in Natriumkarbonatlösung oder Natronlauge, so entsteht weder bei einstündigem noch bei länger dau-erndem Kochen ein Niederschlag.

Das auffallende Verhalten des Elatior-Saponins wurde genauer untersucht. Da die Gewinnung einer grösseren Menge des Saponins we-gen der schweren Filtrierbarkeit der Niederschläge und der grossen Verluste bei der Reinigung mit Tierkohle mühsam und zeitraubend war, versuchten ich, den kristallinen Niederschlag direkt aus der Droge zu gewinnen. Nach mehreren Versuchen führte folgender Weg zum Ziel: Grob gepulverte Elatior-Droge wird zweimal mit der fünffachen Menge 70%igen Alkohols durch 1 - 1½ Stunden am Rückflusskühler ausgezogen. Nach dem Filtrieren wird ungefähr die Hälfte des Alkohols abdestil-

4
liert. Dann wird mit Natriumkarbonatlösung versetzt (ungefähr 1 Teil Natriumkarbonat auf 20 Teile Ausgangsdroge.) und 2 bis 3 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Erkalten wird abfiltriert und der Niederschlag solange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral reagiert und die Kristalle weiss sind.

Die so gewonnene Substanz besteht aus nadelförmigen Kristallen. Sie ist löslich in heissem Wasser im Verhältnis 1:450, in verdünntem Aethylalkohol, in Methylalkohol, schwer löslich in Natronlauge, unlöslich in 96%igem Alkohol, Aether, Chloroform, Essigäther, Benzol, Natriumkarbonat- und Kaliumkarbonat und Natriumchloridlösung. Die wässrige Lösung gibt mit Mineralsäuren einen gallertigen Niederschlag.

Bei ungefähr 220° wird die Substanz gelb, bei steigender Temperatur wird sie langsam dunkler, bis sie bei $242-243^{\circ}$ als dunkelbraune Masse sich zersetzt.

Beim Verbrennen auf dem Platinblech hinterbleibt ein Rückstand, der sich als Natriumkarbonat erwies.

Den Natriumgehalt der Verbindung bestimmten ich als Chlorid. Es wurden 0'1670 g der Elatior-Natriumverbindung verascht. Nach dem vollständigen Veraschen und kurzem Glühen hinterblieb ein Rückstand von 0'0070 g. Nach der Umwandlung in Chlorid nach Treadwell wurde 0'0095 Natriumchlorid gefunden. Dem entspricht 0'00376 g Natrium. Die Elatior-Natriumverbindung enthält also 2'25% Natrium. Der nach dem Veraschen und kurzem Glühen der Elatior-Natriumverbindung erhal-

tene Rückstand enthielt offenbar eine kleine Menge Natriumoxyd, wäre nur Karbonat entstanden, so hätte der Rückstand 0'0086 g schwer sein müssen.

Unter der Annahme, dass die Elatior-Natriumverbindung nur ein Atom Natrium enthält, ist das Molekulargewicht der Verbindung 1022. und weicht nur wenig vom Molekulargewicht der Primulasäure ab, über das an anderer Stelle berichtet wird.

Durch Kochsalz lässt sich die Substanz aus ihrer wässerigen Lösung aussalzen, Ammoniumsulfat dagegen bewirkt keine Fällung.

Infolge des Verhaltens gegen Natriumchlorid liess sich der hämolytische Index nicht genau bestimmen, da mit physiologischer Kochsalzlösung keine klare Lösung, sondern nur eine trübe Aufschwemmung entsteht. Die gefundenen Werte waren durchschnittlich 1:43.000.

Beim Versetzen einer kleinen Menge der Substanz mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure entsteht eine Gelb- bis Braunfärbung, die allmählich in eine dunkelrote Färbung übergeht. Dieselbe Färbung erhält man mit Alkohol-Schwefelsäure.

Natriumverbindung aus *Primula veris*.

Im Gegensatz zum Elatior-Saponin lässt sich, wie erwähnt, die Primulasäure durch anhaltendes Kochen mit Natronlauge oder Natriumkarbonatlösung nicht als kristallisierte Natriumverbindung ausfällen. Wenn man dagegen Veris-Droge ebenso behandelt wie dies oben für Elatior-Droge beschrieben wurde, indem man den alkoholischen Auszug mit

Natriumkarbonatlösung kocht, so bildet sich ebenfalls ein aus Kristallnadeln bestehender reichlicher Niederschlag, der sich durch Waschen mit Wasser als rein weisses Pulver gewinnen lässt.

Diese Veris-Natriumverbindung verhält sich in Bezug auf Aussehen, Schmelzpunkt, Farbenreaktionen und gegen Mineralsäuren genau so, wie die Elatior-Natriumverbindung. Die Löslichkeit dagegen weicht in manchen Punkten von der der Elatior-Verbindung ab. Die Veris -Natriumverbindung ist in 96%igem Alkohol und in verdünnter Natriumkarbonatlösung schwer löslich, während die Elatior -Natriumverbindung unlöslich ist. Ferner besteht ein Unterschied im Verhalten gegen Natriumchlorid. Die Veris-Natriumverbindung wird durch Natriumchlorid nicht ausgesalzen. Daher lassen sich klare Lösungen in physiologischer Kochsalzlösung herstellen und der hämolytische Index bestimmen. Er beträgt 1:65.000. Dabei lässt sich aber nicht entscheiden, in wieweit die im Vergleich zur Elatior-Verbindung bedeutend stärkere Hämolyse-Wirkung nur auf die bessere Löslichkeit in physiologischer Kochsalzlösung zurückzuführen ist.

Die folgenden Versuche zeigen noch deutlicher, dass die beiden Substanzen trotz grosser Aehnlichkeit nicht identisch sind.

Die aus den Natriumverbindungen zurückgewonnenen Saponine.

Die Elatior-Verbindung wurde der Elektro-Dialyse unterworfen. Zu diesem Zwecke wurde die Substanz in Wasser aufgeschwemmt und in

die Mittelkammer des Elektro-Dialyse-Apparates eingefüllt. Während der ganzen Zeit der Elektro-Dialyse wurde der Inhalt der Mittelkammer durch einen Rührer in Bewegung gehalten. Nach zwei bis drei Tagen wurde die Elektro-Dialyse unterbrochen. Es hatte sich in der Mittelkammer, vorwiegend an der Anodenseite eine weissliche, gallertige Masse ausgeschieden, welche nach dem Trocknen ein gelbliches Pulver darstellte. Durch wiederholtes Behandeln mit 96%igem Alkohol wurde die Substanz lichter, konnte aber niemals zur Kristallisation gebracht werden.

In allen untersuchten Eigenschaften stimmt die aus der Elatior-Natriumverbindung erhaltene freie Substanz mit dem aus der Droge gewonnenen Elatior-saponin vollkommen überein und zwar im Schmelzpunkt, Löslichkeit, im Verhalten gegen Laugen, Alkalikarbonatlösung, in Natriumkarbonatlösung genügt aber schon eine Kochdauer von mehreren Minuten, in Natronlauge ist ungefähr eine Stunde erforderlich, gegen Ammoniumsulfat und Natriumchlorid, im hämolytischen Index und in der Toxizität bei intravenöser Injektion.

Nun wurden die Veris-Natriumkristalle in derselben Weise der Elektro-Dialyse unterworfen. Dabei entstand eine weisse, teils pulverige, teils gallertige Masse. Beim Umkristallisieren aus 96%igem Alkohol wurden weisse Kristallnadeln erhalten.

Diese aus der Veris-Natriumverbindung gewonnene freie Substanz stimmt in allen untersuchten Eigenschaften vollständig mit der auf direktem Weg aus *Primula veris* gewonnenen Primulasäure überein.

Durch diese Versuche findet eine früher unverständliche Beobachtung von Kollert, Kofler und Susani ihre Erklärung. Bei der von diesen Autoren durchgeführten Untersuchung über die Wirkungen der Primulasäure bei intravenöser Injektion an Kaninchen wurde für die meisten Versuche die von Kofler aus *Primula veris* hergestellte Primulasäure verwendet, und mit Hilfe der notwendigen Menge Natronlauge in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Nur für einige Versuche wurde ein von einer Fabrik nach Koflers Angaben aus "*Radix Primulae*" hergestelltes Saponin verwendet, das scheinbar mit Primulasäure identisch war. Die Herstellung dieses Saponins hatte aber unerwartet grosse Schwierigkeiten verursacht, ausserdem liess sich das Saponin nicht zur Kristallisation bringen. Dieses Saponin wurde nun für die intravenösen Versuche in Ampullen abgefüllt und sterilisiert. Dabei zeigte sich die auffallende Erscheinung, dass ein Teil der Ampullen klar blieb, ein Teil jedoch einen aus Nadeln bestehenden Niederschlag aufwies. Die klar gebliebenen Ampullen wurden für intravenöse Kaninchenversuche verwendet und zeigten eine wesentlich geringere Toxizität als die von Kofler hergestellten Primulasäurelösungen. Da damals keine Erklärung für dieses auffallende Verhalten gefunden werden konnte, bezeichneten Kollert, Kofler und Susani den Ampulleninhalt vorläufig als "Ampullen Primulasäure".

Nach nobiger Feststellung, dass die Handelsdroge fast ausschliesslich aus *Primula elatior* besteht und diese nicht Primulasäure, sondern das beschriebene *elatior*-Saponin enthält, lässt sich

das Verhalten der "Ampullen Primulasäure" leicht erklären. Es werden die Schwierigkeiten bei der Gewinnung des Saponins verständlich, das Unvermögen zu kristallisieren und die Entstehung eines kristallinen Niederschlages beim Sterilisieren in einem Teil der Ampullen. Die klar gebliebenen Ampullen waren kürzer, die anderen länger sterilisiert worden. Diese Annahme wurde durch nachträgliches Untersuchen bestätigt: die von der Fabrik verwendete Droge war *Primula elatior*, die gewonnene Substanz *Elatior-Saponin*, die Kristalle in den Ampullen *Elatior-Natriumverbindung*.

Kollert und Grill untersuchten die Einwirkung intravenöser Injektionen von *Elatior-Saponin* auf den Cholesteringehalt des Kaninchenserums. Als Dosis letalis minima fanden sie ungefähr 8 mg pro kg Kaninchen. Für Primulasäure hatten Kollert, Kofler und Susani 3-4 mg pro kg Kaninchen gefunden. Die Primulasäure ist also bei intravenöser Verabreichung für Kaninchen etwa doppelt so giftig wie das *Elatior-Saponin*.

In der Toxizität gegenüber roten Blutkörperchen verhalten sich, wie erwähnt, Primulasäure und *Elatior-Saponin* umgekehrt, das *Elatior-Saponin* hat einen höheren hämolytischen Index als die Primulasäure.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich Folgendes: Aus den unterirdischen Organen von *Primula elatior* lässt sich ein Saponin

gewinnen, das als *Elatior-Saponin* bezeichnet werden soll. Das *Elatior-Saponin* zeigt grosse Uebereinstimmung mit der *Primulasäure* aus *Primula veris*, scheint jedoch mit ihr nicht identisch zu sein. Im Gegensatz zur *Primulasäure* lässt sich das *Elatior-Saponin* nicht zur Kristallisation bringen. Die Hämolysewirkung des *Elatior-Saponins* ist grösser als die der *Primulasäure*, dagegen ist die Toxizität des *Elatior-Saponins* bei intravenöser Injektion an Kaninchen nur etwa halb so gross wie die der *Primulasäure*. Ein weiterer auffallender Unterschied zwischen den beiden Saponinen zeigt sich beim Erhitzen der mit Hilfe von Natronlauge oder Natriumkarbonat hergestellten wässerigen Lösungen. Bei länger dauerndem Kochen scheidet sich aus der Lösung des *Elatior-Saponins* ein aus Kristallnadeln bestehender Niederschlag aus, der durch Waschen mit Wasser als rein weisses Pulver erhalten werden kann. Diese vorläufig als *Elatior-Natriumverbindung* bezeichnete Substanz enthält 2,25% Natrium. Die *Elatior-Natriumverbindung* lässt sich auch direkt aus *Primula elatior* durch Kochen des alkoholischen Auszuges mit Natronlauge oder Natriumkarbonatlösung gewinnen. *Primulasäure* gibt beim Kochen mit Natronlauge keinen Niederschlag. Dagegen lässt sich aus einem alkoholischen Auszug aus *Primula veris* durch Kochen mit Natronlauge, eine aus Kristallnadeln bestehende Substanz gewinnen, welche vorläufig als *Veris-Natriumverbindung* bezeichnet werden soll. Die *Veris-Natriumverbindung* und *Elatior-Natriumverbindung* zeigen miteinander grosse Uebereinstimmung. Sie unterscheiden sich durch die leichtere Löslichkeit der *Veris-Natriumverbindung* in Wasser und

durch die Aussalzbarkeit dieser Verbindung durch Kochsalz. Der wichtigste Unterschied liegt aber darin, dass man durch Elektro-Dialyse aus der Veris-Natriumverbindung Primulasäure und aus der Elatior-Natriumverbindung Elatior-Saponin zurückgewinnen kann.

Zwischen der aus der Veris-Natriumverbindung regenerierten und der direkt aus der Droge gewonnenen Primulasäure konnte kein Unterschied festgestellt werden. Dasselbe gilt vom Elatior-Saponin, das aus der Droge und aus der Elatior-Natriumverbindung gewonnen wurde. Ueber die Natur der Natriumverbindungen lässt sich nach den bisherigen Versuchen nichts aussagen. Eine sehr weitgehende Veränderung kann das Saponin in der Natriumverbindung nicht erlitten haben, sonst könnte nicht ein unverändertes Saponin zurückgewonnen werden. Bemerkenswert ist endlich der Umstand, dass die Veris-Natriumverbindung nur aus der Droge und nicht aus der kristallisierten Primulasäure gewonnen werden kann. Dies kann wohl als neue Bestätigung herangezogen werden für die schon früher von Kofler gemachte Annahme, dass die Primulasäure in der Droge in einer anderen Form vorhanden ist.