

II. Ueber das Verhalten der Saponinsubstanzen zu Ammonsulfat.

Bekanntlich kann man die verschiedensten nativen Eiweiss-substanzen mittelst Ammonsulfat aus ihren wässerigen Lösungen „aussalzen“, und zwar fallen die einen schon bei einem geringeren Salzgehalt der Lösung als die andern. Es lag nahe, diese Methode des Aussalzens auch für andere organische wasserlösliche Substanzen zu versuchen. Grössere Versuchsreihen dieser Art hat, soweit ich die Literatur übersehen kann, nur L. Crismer¹⁾ angestellt, und auch diese sind in der deutschen Literatur unbeachtet geblieben. Nach diesem Autor werden nicht nur fast alle künstlichen und synthetischen freien Alkaloide, sondern auch deren Salze, gewisse Glykoside, Bitterstoffe, Aldehyde, Ketone, Alkohole, Säuren, Ester, Phenole, Sulfone, Amide, kurz eine grosse Anzahl der verschiedensten Körper durch Ammonsulfat ausgefällt. Welche Glykoside er unter den Händen gehabt hat, gibt das mir zugängige Referat nicht an. Ich habe schon, als ich mit W. v. Schulz arbeitete, an den Sarsaparillglykosiden derartige Ausfällversuche gemacht, bin aber erst in Neapel durch allgemein biologische Betrachtungen, zu denen ich von dem damaligen botanischen Assistenten der zoologischen Station, Herrn Dr. Nathansohn, angeregt wurde, wieder auf diese Versuche zurückgekommen. Dass beim völligen Sättigen konzentrierter Saponinlösungen mit Ammonsulfat, die Saponine z. T. ausfallen, würde kaum der Erwähnung wert sein. Mir kam es darauf an, festzustellen, 1. ob ein Ausfallen auch aus mit Ammonsulfat nur teilweise gesättigten konzentrierten Saponinlösungen stattfindet; 2. ob ein Ausfallen vielleicht auch stattfindet, falls die Saponine nicht konzentriert gelöst sind; 3. ob etwa nebeneinander vorhandene Saponine durch diese Methode in ähnlicher Weise voneinander getrennt werden können, wie dies bei den tierischen und pflanzlichen²⁾ Eiweissstoffen der Fall ist. Eingehende Versuche haben mir nun gezeigt, dass alle drei Fragen mit Ja zu beantworten sind.

¹⁾ Annales de la société médico-chirurgienne de Liège 1891. Mir nur zugänglich im Referat der Chem.-Ztg. Jg. 1891, Nr. 28, p. 308.

²⁾ Quantitative Angaben über die Ausfällungsgrenze pflanzlicher Proteine siehe Th. Osborne und J. F. Harris, Journ. Americ. Chem. Soc. vol. 25, 1903, p. 837; vgl. in Chem. Cbl. 1903. Bd. 2, p. 890.

Die Technik der Versuche war folgende. Die relativ konzentrierte Lösung der zu prüfenden Saponinsubstanz wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und einige Minuten gewartet. Trat weder Fällung noch Trübung ein, so wurde entweder das Volumen der Ammonsulfatlösung doppelt, ja fünffach genommen, oder das Gemisch der Saponinlösung mit dem gleichen Volumen Ammonsulfat wurde erhitzt. Leider bin ich erst bei den letzten Versuchen darauf gekommen, zu erhitzen; ich schlage dies aber für alle weiteren derartigen Versuche vor, da es das Zustandekommen der Fällung in zweifelhaften Fällen wesentlich unterstützt. Erst als das Vorstehende bereits niedergeschrieben war, erschien eine Arbeit von K. Spiro¹⁾, in welcher dieser mit Recht betont, dass die Fällung von Kolloiden durch Erhitzen unterstützt werden kann. Eine Spaltung der Saponine tritt beim Erhitzen derselben mit Ammonsulfat nicht ein. Die Fällung ist, wenn sie sofort eintritt, meist eine quantitative. Täuschungen kommen vor, falls Kalksalze anwesend sind, da diese als Gips ausgefällt werden. Das Mikroskop zeigt aber dann die Gipsnadeln. Falls das Saponin Farbstoffe (z. B. Rindenfarbstoffe) enthält, werden diese von der ausfallenden Saponinsubstanz mit niedergerissen. Dadurch wird, falls man quantitativ arbeitet, die Menge des Niederschlags zu hoch gefunden. Man muss dann den Niederschlag mit Alkohol auskochen, wobei die Farbstoffe der Drogen ungelöst bleiben.

1. Meine ersten Versuche bezogen sich auf den neutralen Bestandteil der Quillajarinde. Ganz reines Quillajasapotoxin, von mir selbst hergestellt, wurde 10%ig in Wasser gelöst und nun je 2 ccm dieser Lösung in einer Reihe von Reagensgläsern mit 2, 4, 6, 8 etc. ccm von gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Es erfolgte nicht einmal bei Zusatz von 38 ccm des Fällungsmittels ein Niederschlag oder auch nur eine Trübung. Die 10%ige Lösung des Quillajasapotoxins ist also durch Ammonsulfat nicht fällbar. Ich wiederholte jetzt den Versuch, indem ich in 3 Gläschen je 2 ccm der 25%igen Sapotoxinlösung brachte und sie mit 2, 4 und 6 ccm des Fällungsmittels versetzte. Auch hier erfolgte keine Fällung oder nur Trübung. Nun wurde der gleiche Versuch sogar mit 50%iger

¹⁾ Hofmeisters Beiträge Bd. 4, 1903, p. 300.

Lösung angestellt und die Menge des Fällungsmittels für 2 ccm Sapotoxinlösung sogar bis auf 20 ccm gesteigert, ohne dass Fällung oder Trübung erfolgte. Das von E. Merck dargestellte Sapotoxin, sowie das im wesentlichen aus Sapotoxin bestehende Saponinum purissimum albissimum dieser Firma verhielten sich ebenso. Auch das Aufkochen der 50%igen Lösung mit dem mehrfachen Volumen von Ammonsulfatlösung hatte keine abscheidende Wirkung. Endlich wurde sogar pulverförmiges, von mir selber dargestelltes Sapotoxin in gesättigte Ammonsulfatlösung eingetragen, damit innig verrührt und nun erhitzt. Dabei löste sich das Sapotoxin teilweise und blieb auch beim Kochen gelöst.

Damit ist erwiesen, dass das von mir selbst, sowie von der Firma E. Merck nach meiner Vorschrift hergestellte Quillajasapotoxin aus selbst konzentrierten² Lösungen nicht ausfällt, auch wenn man diese mit Ammonsulfat sättigt oder mit gesättigter Ammonsulfatlösung im Ueberschuss versetzt und dann kocht.

2. Die weisse Seifenwurzel scheint ja nur eine Saponinsubstanz zu enthalten, das sogen. levantische Sapotoxin. Leider stand mir von dem Originalpräparat, welches Kruskal seinerzeit bei mir dargestellt hat, nichts mehr zur Verfügung, wohl aber noch eine kleine Menge eines von G. Dragendorff dargestellten Präparates. Die 1%- und die 5%ige Lösung dieser Substanz liess sich überhaupt nicht fällen. Die 10%ige musste mit dem zehnfachen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt werden, gab dann aber nach 12stündigem Stehen eine gute Abscheidung. In der ersten Stunde war nur eine Opaleszenz eingetreten.

Jedenfalls ist damit bewiesen, dass das levantische Sapotoxin mit dem der Quillajarinde nicht identisch ist. Es lässt sich durch Ammonsulfat fällen, aber nur schwer und langsam.

3. Von Quillajasäure standen mir drei verschiedene Präparate zur Verfügung, ein selbst dargestelltes, ein von Dr. Hoffmann dargestelltes und ein von E. Merck geliefertes. Alle drei zeigten einen sehr bemerkenswerten Gegensatz zum Quillajasapotoxin, indem ihre neutralisierten Lösungen beim Erhitzen mit gleichem Volumen Ammonsulfatlösung

noch eine Fällung ergaben, wenn sie auch nur 0,1%ig waren. Opaleszenz trat auch noch bei 0,05%igen Lösungen ein.

Da zur Anstellung der Reaktion nicht mehr als 1 ccm Quillajasäurelösung erforderlich ist, so kann damit also selbst bei Anwesenheit von Sapotoxin ein Milligramm Quillajasäure noch sehr wohl nicht nur nachgewiesen, sondern sogar abgetrennt werden. Natürlich muss man den Niederschlag, da er den Rindenfarbstoff mit einschliesst, nachher in etwas verdünnter Salz- oder Schwefelsäure lösen und die klare Lösung einige Zeit kochen. Alsdann ist sie auf Sapogenin und auf Zucker zu prüfen.

4. An der Hand dieses Verfahrens verglich ich das Saponin von Merck mit dem Saponin von Sthamer. Während das Mercksche Präparat, wie schon gesagt wurde, sich als ganz frei von Quillajasäure erwies, liess sich in dem Sthamerschen mit Leichtigkeit Quillajasäure nachweisen und durch Kochen mit Ammonsulfat quantitativ abscheiden und als solche identifizieren.

Für die bei der Verarbeitung der Quillajarinde auf ihre beiden Saponinsubstanzen nötige Trennung beider kann ich also ausser dem früher von mir angegebenen Bleiverfahren noch ein zweites, das Ammonsulfatverfahren, in Vorschlag bringen. Die filtrierten und dann konzentrierten Rindendekokte sättigt man mit Ammonsulfat und kocht damit einige Minuten lang. Dabei entsteht ein sich gut ballender Niederschlag, welcher die Gesamtmenge der Rindenfarbstoffe und der Quillajasäure enthält, während das farblose Filtrat das Sapotoxin enthält. Versetzt man dieses Filtrat nach weiterem Einengen in der Hitze mit reichlichen Mengen Alkohol und nach dem Abfiltrieren des ausgefallenen Ammonsulfats das abgekühlte Filtrat mit Aether, so fällt das Sapotoxin als weisses Pulver aus. Den die Quillajasäure enthaltenden Niederschlag presst man ab, kocht ihn mit Alkohol aus und fällt das Filtrat nach dem Erhalten mit Aether.

5. Das Cyclamin der Erdscheibe, welches ich seinerzeit mit meinem Schüler Nic. Tufanow¹⁾ untersucht habe, ist ein neutrales Saponin. Lösungen desselben in Wasser, welche im ccm 2 mg Substanz enthielten, gaben bei Zusatz

¹⁾ Dorpater pharmakol. Inst.-Arb. Bd. 1, 1888, p. 100.

des doppelten Volumens gesättigten Ammonsulfates noch in der Kälte, solche welche im cem 1 mg oder nur 0,5 mg Substanz enthielten, wenigstens beim Kochen glashelle Flocken.

Damit ist bewiesen, dass das Cyclamin aus wässrigen Lösungen, selbst wenn es sich darin nur in 2000—6000-facher Verdünnung findet, mittels Ammonsulfat in der Hitze ausgesalzen werden kann.

6. Das Melanthin der *Nigella sativa* wurde von H. G. Greenish¹⁾ in Dorpat gefunden; schon von ihm wurde betont, dass es chemisch nach mancher Hinsicht mit dem Cyclamin Aehnlichkeit hat. Bei Versuchen, welche ich mit W. v. Schulz²⁾ anstellte, erwies es sich seiner Giftigkeit nach als zwischen Cyclamin und Quillajasäure stehend. Es reagiert, wie ich schon S. 9 bemerkt habe, sauer, ist in Wasser in der Kälte unlöslich, wird aber augenblicklich gelöst, falls man das Gemisch z. B. mit Ammoniak neutralisiert oder noch besser schwach alkalisch macht. Eine derartige schwach alkalische 3%ige Lösung diente zu meinen Versuchen. Mit dem gleichen Volumen Ammonsulfat gab sie sofort schon in der Kälte einen voluminösen dickflockigen Niederschlag. Die 1,5%ige und 1%ige Lösung gab mit dem doppelten Volumen ges. Ammonsulfat einen langsam entstehenden Niederschlag. Dünnere Lösungen (0,5- und 0,2%ige) wurden nur noch beim Erhitzen, hier aber prompt gefällt. Die Grenze der Reaktion konnte ich leider nicht feststellen, da mir die kostbare Substanz ausging. Ich vermute, dass die Verhältnisse dieselben wie bei der Quillajasäure sind.

Genug, die Melanthinsäure ist nach meiner Methode sicher nachweisbar. Ob neben ihr im Schwarzkümmel noch ein neutrales Melanthin enthalten ist, bedarf weiterer Prüfung.

7. Die *Radix Saponariae rubrae* habe ich durch v. Schulz³⁾ seinerzeit untersuchen lassen, habe diese Untersuchung aber mit etwas anderem Erfolge jetzt wiederholt. Während nämlich Schulz nur eine Saponinsubstanz, und zwar eine neutrale, nachweisen konnte, gelang es mir mit Hilfe der

¹⁾ Contribution to the chemistry of *Nigella sativa*. Pharmaceut. Journ. 1880, may 15 and june 19. Note on *Nigella Damascena* and *Nigella sativa*. Ibid. 1882, febr. 18.

²⁾ Dorpater pharmakol. Inst.-Arb. Bd. 14, 1896, p. 111.

³⁾ Dorpater pharmakol. Inst.-Arb. Bd. 14, 1898, p. 82.

Ammonsulfatmethode, deren zwei darin nachzuweisen, von denen die erste von Ammonsulfatlösung noch bei ziemlich starker Verdünnung abgeschieden wird. Als Probe auf diesen Befund untersuchte ich das *Dialysatum Golacz. Saponariae rubrae*. Ich würde nicht erstaunt gewesen sein, wenn ich in demselben überhaupt keine Saponinsubstanz gefunden hätte, denn auf dem Wege der Dialyse kann man, wie wir oben besprochen haben, Saponinsubstanzen eben nur sehr schlecht darstellen. Aber der Befund war ein anderer; es gelang, in dem Dialysat sogar zwei Saponine, eine mit Ammonsulfat fällbare Saporubrinsäure und das nicht fällbare neutrale Saporubrin, nachzuweisen. Die Grenzen der Fällbarkeit habe ich nicht festgestellt. Die Zahl der oben (S. 9) aufgeführten Drogen mit einer neutralen und einer sauren Saponinsubstanz hat sich damit um eine erhöht.

8. Das Chamälinin weicht in seinen chemischen und physiologischen Eigenschaften vom Typus der gewöhnlichen Saponine wesentlich ab. Gerade deshalb war es für mich von Interesse, es auf sein Verhalten zu Ammonsulfat zu prüfen. Ich verwandte ein selbst dargestelltes Präparat. Wenn ich zu 5 ccm der 20%igen Lösung auch nur 1 Tropfen ges. Ammonsulfat zufügte, trat bereits eine reichliche Fällung ein. Bei weiterem Zusatz fiel die Gesamtmenge des Glykosides als zusammenhängender Klumpen aus. Die 10%ige Chamälininlösung fiel bei Zusatz des gleichen Volumens von ges. Ammonsulfat als voluminöser Klumpen aus. Die 2%ige Lösung gab mit dem gleichen Volumen Ammonsulfat eine feinflockige reichliche Fällung. Die 1%ige Lösung gab mit dem gleichen Volumen ges. Ammonsulfat nur Trübung, aber bei Zusatz des doppelten Volumens ohne Erhitzen Ausfällung. Dünnere Lösungen wurden nur noch beim Erhitzen ausgefällt; die Grenze habe ich nicht festgestellt.

Das Mitgeteilte genügt aber, um zu zeigen, dass auch das Chamälinin nach der neuen Methode fällbar ist.

9. Von den Glykosiden der Sarsaparille kommen die in Wasser unlöslichen nicht in Frage. Das wasserlösliche Sarsasaponin lässt sich, wie ich schon durch v. Schulz 1895 habe feststellen lassen, durch Ammonsulfat ausfällen. Zahlenangaben kann ich leider wegen Stoffmangel darüber nicht geben.

10.—14. Von den Saponinsubstanzen aus Guajakdrogen wurden fünf verschiedene Präparate geprüft. Friboes¹⁾ hat dargetan, dass in den Blättern des Guajakbaumes zwei Saponinsubstanzen eigener Art enthalten sind, welche er als Blattsaponinsäure und als Blattsaponin unterscheidet. Erstere reagiert sauer, letzteres neutral. Zu meinen Versuchen diente zunächst die erstere, und zwar das neutrale guajakblatt-saponinsaure Natrium. Die 10%ige wässrige Lösung desselben wurde bei Zusatz des gleichen Volumens von ges. Ammonsulfatlösung sofort als voluminöser Niederschlag ausgefällt. Die 2%ige Lösung des Glykosides bedurfte zur sofortigen quantitativen Ausfällung in der Kälte das 5fache Volumen von ges. Ammonsulfatlösung und die 1%ige Lösung des Glykosides das 10fache Volumen. Beim Erhitzen würde das Ergebnis vielleicht ein günstigeres gewesen sein.

Das neutrale Guajakblattsaponin verhielt sich ungefähr ebenso.

Weiter prüfte ich das neutrale Guajakrindensaponin, welches wie das eben besprochene Präparat von Friboes selbst dargestellt worden war. Es ist nach Friboes mit dem neutralen Blattsaponin keineswegs identisch. Die 10%ige wässrige Lösung erstarrte bei Zusatz des gleichen Volumens von ges. Ammonsulfat zu einem Brei. Die 2%ige Lösung wurde bei Zusatz des dreifachen Volumens von ges. Ammonsulfat sofort ohne Erhitzen quantitativ gefällt. Die 1%ige Lösung wurde bei Zusatz des 6fachen Volumens ges. Ammonsulfat sofort ohne Erhitzen quantitativ gefällt. Bei der 0,5%igen Lösung genügte dieselbe Menge des Fällungsmittels ebenfalls, aber erst nach mehrstündigem Stehen wurde die Ausfällung quantitativ. Bei der 0,25%igen Lösung erforderte dieselbe Menge des Fällungsmittels ein 10stündiges Stehen, ehe der Niederschlag sich völlig gebildet und abgesetzt hatte. Erhitzungsversuche wurden nicht vorgenommen.

Das vierte untersuchte Präparat war ein von E. Merck auf meine Veranlassung für den Handel dargestelltes Guajakrindensaponin. Es erwies sich bei eingehender Prüfung als ein Gemisch des neutralen Rindensaponins mit der Rindensaponinsäure. Demgemäss reagiert es sauer und ist in Wasser

¹⁾ Beiträge z. Kenntnis d. Guajakpräparate, p. 75.

ohne Alkalizusatz nur unvollkommen löslich. Setzt man jedoch einen Tropfen verd. Natronlauge zu, so lassen sich leicht klare, ziemlich konzentrierte Lösungen herstellen. Dieselben haben eine braune Farbe. Derartig bereitete 10%ige und 5%ige Lösungen fielen bei Zusatz des gleichen Volumens von ges. Ammonsulfat sofort voluminös unter Einschluss des Farbstoffes aus. Die 2%ige und die 1%ige Lösung wurden durch das gleiche Volumen des Fällungsmittels noch sofort gefällt; die 0,5%ige liess nicht sofort, wohl aber nach einigen Stunden bei gleichem Zusatze das Glykosid ausfallen.

Als letztes Präparat aus der Guajakrinde verwendete ich von Frieboes dargestellte Guajakrindensaponinsäure in neutralisierter wässriger Lösung. Versetzte ich die 1%ige wässrige Lösung mit dem gleichen Volumen ges. Ammonsulfatlösung, so erfolgte unmittelbar darauf quantitative Ausfällung. Die 0,5%ige Lösung des Glykosides gab bei Zusatz des gleichen Volumens des Fällungsmittels zwar in der Kälte sofort nur eine Trübung, wohl aber beim Kochen flockige Fällung. Wurde nicht gekocht, sondern nur ruhig hingestellt, so erfolgte ebenfalls nach einigen Stunden Ausfällung. Auch die 0,2%ige Lösung gab beim Vermischen mit dem gleichen Volumen des Fällungsmittels binnen 10 Stunden eine Fällung des gesamten Glykosides. Durch Kochen liess sich die Abscheidung binnen wenigen Minuten erzielen. Auch die 0,1%ige Lösung wurde beim Kochen mit dem gleichen Volumen des Fällungsmittels binnen wenigen Minuten wenigstens intensiv weisslich getrübt. Wahrnehmbar war diese Trübung sogar noch, wenn nur 0,05%ige Lösung verwendet und scharf gekocht wurde.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, besitzen beide bei der Holzteekur der Syphilis zur Verwendung kommenden Volksmittel, die Sarsaparille und der Guajakbaum Saponine, welche durch Ammonsulfat aussalzbar sind, und zwar gilt dies bei der Guajakrindensaponinsäure noch für 0,2%ige Lösungen.

15. Von den Saponinsubstanzen der Senegawurzel verwendete ich selbst dargestellte Polygalasäure, die allerdings mit bräunlichrotem Wurzelfarbstoff etwas verunreinigt war. Sie reagierte deutlich sauer. Ich stellte zunächst eine schwach alkalisch gemachte 20%ige Lösung her. Diese wurde durch das gleiche Volumen ges. Ammonsulfat reichlich gefällt. Setzte ich das doppelte Volumen des Fällungsmittels zu, so erfolgte

sofort quantitative Ausfällung. Die Fällung war gelbbraun; sie wurde mit Ammonsulfat auf dem Filter gewaschen, behielt aber die gelbbraune Farbe; die Filtrate waren sämtlich farblos. Der mit niedergerissene Wurzelfarbstoff kann eben durch Waschen mit Ammonsulfat nicht entfernt werden. Die in kochendem dest. Wasser gelöste Fällung konnte durch heisse Dialyse von dem noch anhaftenden Ammonsulfat zum grössten Teil befreit werden. Allerdings ging auch vom Glykosid dabei etwas mit über, aber weit weniger als vom Ammonsulfat. Die 5%ige neutralisierte Lösung der Polygalasäure wurde durch das doppelte Volumen von ges. Ammonsulfat ebenfalls noch sofort fast völlig ausgefällt. Die 1%ige Lösung wurde vom doppelten Volumen Ammonsulfat stark getrübt und vom vierfachen Volumen sofort ausgefällt. Dieselbe Menge des Fällungsmittels wirkte auf die 0,5%ige Lösung des Glykosides zwar nicht sofort aber doch nach einiger Zeit fällend. Die 0,25%ige und die 0,1%ige Lösung wurden durch Kochen mit dem Fällungsmittel zur Ausfällung gebracht.

Die Polygalasäure ähnelt also in bezug auf Fällbarkeit durch Ammonsulfat der Quillajasäure, mit der sie ja auch sonst viel Aehnlichkeit hat.

16. Als letzte eigentliche Saponinsubstanz verwendete ich die Cereinsäure von G. Heyl¹⁾, und zwar ein von E. Merck dargestelltes sehr reines Präparat, in neutralisierter wässriger Lösung verschiedener Konzentration. Versetzte ich 4 ccm der 2%igen Lösung auch nur mit 1 ccm ges. Ammonsulfat, so erfolgte bereits eine weisse Abscheidung. Diese wurde bei jedem weiteren ccm des Fällungsmittels stärker und erreichte beim vierten ihren Höhepunkt, indem das ganze Gemisch zu einer Gallerte wurde. Die 0,5%ige Lösung gab bei Zusatz des doppelten Volumens des Fällungsmittels sofort eine flockige Abscheidung auch ohne Erhitzen. Die 0,2%ige Lösung ergab dasselbe nach vorherigem Erhitzen, während in der Kälte nur Opaleszenz zu bemerken war. Die 0,1%ige Lösung gab bei Zusatz des gleichen Volumens von ges. Ammonsulfat in der Kälte eine kaum merkbare Trübung, beim Kochen aber quantitative flockige Abscheidung. Selbst in der 0,05 und in der 0,01%igen

¹⁾ Ueber das Vorkommen von Alkaloiden und Saponinen in Cacteen. Arch. der Pharmacie Bd. 239, 1901, Heft 6.

Lösung liess sich das Glykosid beim Kochen mit dem Fällungsmittel nicht nur nachweisen sondern sogar abscheiden.

Damit glaube ich bewiesen zu haben, dass das Ammonsulfat namentlich zum Nachweis und zur Gewinnung der sauren Saponinsubstanzen recht brauchbar ist. Besonders brauchbar ist mein Fällungsmittel bei Verarbeitung von Quillajaextrakten auf Saponine, da das Quillajasapotoxin damit gar nicht gefällt wird, die Quillajasäure aber wohl. Das Sthamersche Saponin lässt sich auf diese Weise sehr leicht in seine zwei Komponenten zerlegen. Ganz hervorragend empfindlich ist die Cereinsäure für ges. Ammonsulfatlösung, da sie davon in der Hitze noch bei 10 000facher Verdünnung ausgefällt wird.

Die vorstehenden Fällungsversuche haben vielleicht nicht nur für den Chemiker sondern auch für den Pflanzenphysiologen Interesse. Wir finden nämlich die Saponinstoffe in den lebenden Pflanzen in den Speicherorganen in ungemein starken Konzentrationen, ja geradezu als Niederschlag vor. Es wäre nicht unmöglich, dass eins der im Saftstrom der Pflanze vorhandenen Salze unsere Glykoside in analoger Weise zur Fällung bringt wie bei unsern Versuchen das Ammonsulfat. Möchten diese Zeilen zu Versuchen nach dieser Richtung hin Anstoss geben!

Es schien mir von Interesse anhangsweise noch einige andere glykosidische Stoffe mit Hilfe der ges. Ammonsulfatlösung zu prüfen, welche zu der Saponin-Gruppe in gewisser Beziehung stehen, ich meine Solanin, Solanein, Helleborein und Ipecacuanhasäure.

16. Die 10%ige Lösung von Solaninum hydrochloricum erforderte das vierfache Volumen ges. Ammonsulfatlösung, ehe die Ausfällung eine völlige war.

17. Auch entsprechend konzentrierte Lösungen von Solanein liessen sich durch ges. Ammonsulfatlösung ausfällen, und zwar wie beim Solanin ohne Erhitzen.

18. Versetzte ich 4 ccm der 10%igen Lösung von Helleborein, die wie Saponinlösungen schäumt und auch in ihrer Blutwirkung an Saponine erinnert, auch nur mit einem Tropfen ges. Ammonsulfatlösung, so begann bereits die Ausscheidung des Glykosides, aber sie wurde erst quantitativ, wenn das Volumen des Fällungsmittels fast so gross war als das des Glyko-

sides. Die 2%ige Lösung des Helleboreins wurde völlig ausgefällt, wenn ihr das dreifache Volumen von Ammonsulfatlösung zugesetzt wurde. Die 1%ige Lösung erforderte das vierfache Volumen, die 0,2%ige Lösung das zehnfache Volumen des Fällungsmittels, um flockige Ausfällung zu geben.

19. Die in der *Radix Ipecacuanhae* enthaltene, von meinem Schüler Tokuye Kimura¹⁾ genauer untersuchte Ipecacuanhasäure hat nach diesem Autor die schon S. 12 kurz erwähnte Formel $C_{17}H_{26}O_{10}$ und kann daher dieser Formel nach als ein Glied der von mir aufgestellten Reihe $C_nH_{2n-8}O_{10}$ der Saponinsubstanzen betrachtet werden. In der Wirkung ähnelt sie den Saponinen jedoch nicht. Die mit Ammoniak schwach alkalisch gemachte 5%ige Lösung der Ipecacuanhasäure wurde durch das gleiche Volumen ges. Ammonsulfatlösung sofort völlig ausgefällt. Das gleiche liess sich auch für 2,5%ige und sogar für die 1%ige Lösung dartun. Der Niederschlag war selbst bei der 1%igen Lösung voluminös und setzte sich sehr gut ab. Die 0,5%ige Lösung gab mit dem gleichen Volumen ges. Ammonsulfat eine sofort entstehende flockige Fällung. Die 0,2%ige Lösung gab diese beim Zusatz des doppelten Volumens des Fällungsmittels, und zwar sofort und ohne Erhitzen. Bei 0,1%iger Lösung bildete sich der Niederschlag auch noch ohne Erhitzen, aber erst beim Zusatz des vierfachen Volumens des Fällungsmittels und erst im Laufe mehrerer Stunden. Bei noch dünneren Lösungen muss erhitzt werden, um die Reaktion eintreten zu lassen.

Diese Versuche zeigen, dass auch die vier in gewisser Beziehung zur Saponingruppe stehenden Stoffe, das kristallinische Solanin, das amorphe Solanein, das Helleborein und die Ipecacuanhasäure mittelst Ammonsulfatlösung ausgesalzen werden können. Von nicht zu den Saponinen gehörigen Glykosiden, welche mit Ammonsulfatlösung bequem ausgesalzen werden können, nenne ich z. B. das Gemisch von Glykosiden, welches mit dem Sammelnamen Condurangin bezeichnet wird, und das ich früher mit G. Jukna²⁾ eingehend untersucht habe. Da dieses Glykosidgemisch beim Er-

¹⁾ Archives internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie vol. 11, 1903, p. 405.

²⁾ Dorpater pharmak. Instit.-Arbeiten Bd. 4, 1890, p. 81.

hitzen der wässrigen Lösung wie Eiweiss gallertig sich ausscheidet, vermutete ich, dass es auch gegen die aussalzende Wirkung des Ammonsulfates sich wie Eiweiss verhalten werde. Diese Vermutung erwies sich als richtig: Das Condurangin lässt sich durch Ammonsulfatlösung sehr bequem aussalzen. Auch die Saponinsubstanzen erinnern durch die leichte Aussalzbarekeit an Eiweissstoffe, mit denen sie ja auch das Schäumen der Lösungen und den kolloiden Charakter gemeinsam haben. Wie Fr. Hofmeister auf die verschiedenen Mengen von Ammonsulfat, welche zum Aussalzen der einzelnen Eiweissstoffe nötig sind, Nachweis- und Trennungsmethoden der einzelnen Eiweissstoffe gegründet hat, so kann man dies auch bei den Saponinsubstanzen tun. Die andern Glykoside und die Alkaloide lassen sich durch Ammonsulfatlösung keineswegs in analoger Weise ausfällen. So gab z. B. kaltgesättigte Phloridzinlösung und Koniferinlösung selbst mit der fünffachen Menge von Ammonsulfatlösung keinen Niederschlag. Auch eine 10%ige Lösung von Chininum bimuriaticum wurde bei Zusatz des gleichen Volumens von gesätt. Ammonsulfatlösung nicht im mindesten verändert, ja selbst nicht bei Zusatz des doppelten, dreifachen und vierfachen Volumens. Eine 4%ige Lösung von salzsaurem Morphin blieb klar, selbst wenn die zugesetzte Menge von Ammonsulfat das 15fache Volumen betrug. Dass man durch Sättigen von Alkaloid- und Glykosidlösungen mit Ammonsulfat in Substanz Fällungen bewirken kann, hat gar kein Interesse für mich, denn bei allen vorstehenden Versuchen handelt es sich ausschliesslich um Gemische, in welchen das Ammonsulfat allerhöchstens bis zur halben Sättigung vorhanden ist. Bei so geringer Sättigung fallen eben nur ganz bestimmte Stoffe, und zwar ganz besonders leicht viele Saponinsubstanzen aus.

III. Ueber das Verhalten der Saponinsubstanzen zu einigen Farbstoffen.

Ueber das Verhalten der sauren Saponine zu Congo-rot habe ich schon S. 8 gesprochen. Einen analogen Farbumschlag zeigen auch Alizarinorange und Alizarinrot, wenn sie als schwach alkalische Lösungen zugesetzt werden; sie ver-