

25. W. Voss, P. Klein und H. Sauer: Zur Kenntnis des Glycyrrhizins¹⁾.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Universität u. d. Techn. Hochschule Breslau.]

(Eingegangen am 15. Dezember 1936.)

Das Glycyrrhizin, der glykosidische Inhaltsstoff des Süßholzes, hat das Interesse der Chemiker schon sehr früh geweckt; in einer fast 100 Jahre zurückliegenden Arbeit von A. Vogel²⁾ wird z. B. J. Berzelius als Bearbeiter des Süßholz-Zuckers angeführt. Fortschritte in der Aufklärung dieses Naturstoffes sind aber nur sehr langsam erfolgt. Die manchmal recht erheblich voneinander abweichenden Angaben der einzelnen Autoren zeigen sich nicht nur in Einzelheiten, sondern in erster Linie in den Angaben über die Bruttoformel. Eine Zusammenstellung der älteren Untersuchungen findet sich in einer Arbeit von P. Karrer, W. Karrer und J. C. Chao³⁾. In der Zwischenzeit haben über das Glycyrrhizin oder über das Aglykon, die Glycyrrhetinsäure, berichtet L. Ruzicka und van Veen⁴⁾, F. Bergmann⁵⁾ und kürzlich L. Ruzicka und H. Leuenberger⁶⁾. P. Karrer und Mitarbeiter, denen eine Klärung der Frage des Stickstoffgehalts zu danken ist, haben für die Glycyrrhetinsäure die Formel $C_{45}H_{72}O_6$ entwickelt. Auf die Aufstellung einer Formel für das ungespaltene Glykosid, die Glycyrrhizinsäure, ist von ihnen wegen einer Reihe von Unstimmigkeiten verzichtet worden. F. Bergmann hat für die Glycyrrhetinsäure die Formel $C_{23}H_{26}O_3$ angegeben. L. Ruzicka und H. Leuenberger berichten im wesentlichen nur über die Glycyrrhetinsäure und haben sich der erstmalig von W. Voss in einem Vortrag¹⁾ mitgeteilten Ansicht angeschlossen, daß der Glycyrrhetinsäure eine Formel mit 30 C-Atomen zu erteilen ist. Die Glycyrrhetinsäure rückt damit in die Nähe der von L. Ruzicka, Kitasato, H. Wieland und anderen untersuchten Aglykone der Saponin-Gruppe, wie etwa der Oleanolsäure, $C_{30}H_{48}O_3$, des Hederagenins, $C_{30}H_{48}O_4$, und der Chinovasäure, $C_{30}H_{46}O_5$.

Ein Eingehen auf die ältere Literatur kam bis auf wenige unumgängliche Ausnahmen vermieden werden. Dagegen ist trotz der Unterschiede zwischen unserer Bruttoformel $C_{30}H_{46}O_4$ für die Glycyrrhetinsäure und den Formeln von P. Karrer und von F. Bergmann ein Heranziehen der Versuchsergebnisse dieser Autoren als verwertbare Stützen möglich und notwendig. Es sei erwähnt, daß anscheinend, besonders bei älteren Untersuchungen, Fragen, wie etwa das sehr zähe Festhalten von Lösungsmitteln, z. B. von Eisessig, nicht immer genügend berücksichtigt worden sind. Dazu kommen bei der Glycyrrhetinsäure und ihren Derivaten das Auftreten von Isomeren, vielleicht auch Polymorphie-Erscheinungen oder Mischkristallbildungen. Wenn durch diese sich anzeigenden Komplikationen des Gebietes ein großer Teil der unterschiedlichen experimentellen Befunde der einzelnen Autoren erklärt wird, so bleibt aber eine Angabe von A. Tschirsch und S. Gauchmann⁷⁾, daß Glycyrrhizin optisch inaktiv sei, unverständlich. Die nicht

¹⁾ Der Inhalt dieser und der folgenden Mitteil. ist von W. Voss beim Reichstreffen der deutschen Chemiker in München, Juli 1936, in der Fachgruppe für organische Chemie vorgetragen worden. Referat: *Angew. Chem.* **49**, 556 (1936).

²⁾ *Journ. prakt. Chem.* **28**, 1 (1843).

³⁾ *Helv. chim. Acta* **4**, 100 (1921).

⁴⁾ *Ztschr. physiol. Chem.* **184**, 76 (1929).

⁵⁾ *Biochem. Ztschr.* **267**, 296 (1933).

⁶⁾ *Helv. chim. Acta* **19**, 1402 (1936).

⁷⁾ *Arch. Pharmaz.* **246**, 549 (1908).

unerhebliche Rechtsdrehung sowohl des Glykosids als auch des Aglykons ist auch von P. Karrer und Mitarbeitern übersehen worden. Erstmalig sind Angaben über die Drehwerte dieser Substanzen durch F. Bergmann erfolgt. Wir haben die Veröffentlichung von F. Bergmann, die anscheinend auch L. Ruzicka und H. Leuenberger entgangen ist, erst in allerletzter Zeit nach Abschluß unserer bisherigen Untersuchungen kennen gelernt, so daß der Vergleich der Ergebnisse manchmal etwas erschwert ist. So gibt F. Bergmann für die in wäßr. Essigsäure bestimmte spezif. Drehung der Glycyrrhetinsäure den Wert $[\alpha]_D^{20}$: $+62.1^{\circ}$ an, während wir in absol. Alkohol den Wert $[\alpha]_D^{20}$: $+58.5^{\circ}$ gefunden haben.

Zur Darstellung der Glycyrrhizinsäure sind wir unter Anlehnung an eine Vorschrift von J. Habermann⁸⁾ vom Glycyrrhizinum ammoniacale des Handels ausgegangen, ein Weg, der auch von F. Bergmann beschritten worden ist. Wir haben dabei ein Mehrfaches der von F. Bergmann erwähnten Ausbeute erhalten und geben das angewandte Arbeitsverfahren genau an. Die Ausbeute schwankt nur wenig mit der Qualität des Ausgangsmaterials, die einzelnen Bearbeiter haben zu verschiedensten Zeiten fast die gleichen Ausbeuten erreicht.

Für die Glycyrrhizinsäure ergibt sich auf Grund unserer Ergebnisse die Formel $C_{42}H_{62}O_{16}$, die durch Kombination von 2 Mol. Hexuronsäure $C_6H_{10}O_7$ und 1 Mol. Glycyrrhetinsäure $C_{30}H_{46}O_4$ entsteht⁹⁾. Zur Stützung der Formel $C_{42}H_{62}O_{16}$ für die dreibasische Glycyrrhizinsäure eignen sich am besten die Daten des Mono-Ammoniumsalzes und des Mono-Kaliumsalzes; das letztere enthält wie das Tri-Kaliumsalz 2 Mol. Krystallwasser fest gebunden, die Säure selbst ist nicht so günstig. Bei der Reinheitsprüfung der erhaltenen Substanzen sind entsprechend den Befunden von P. Karrer über die Methanbildung bei der Verbrennung die Ergebnisse der Elementaranalyse nicht so sicher wie andere analytische Bestimmungen. Nach unseren Erfahrungen, allerdings unter Verwendung der Methode von Ter Meulen, bereiten die Glycyrrhizinsäure und ihre Derivate bei der Verbrennung noch mehr Schwierigkeiten als die Glycyrrhetinsäure. Richtige Kohlenstoffwerte haben wir nur bei langsamster Führung der Verbrennung erhalten können. Die sicherste Prüfung des Molekulargewichtes und der Formel geben die Titration der primären Salze und weiter die Bestimmungen der Gehalte an Kalium oder Ammonium. Dabei zeigt sich z. B., daß die Formel $C_{42}H_{61}O_{16}K + 2H_2O$ einen theoretischen Gehalt von 4.36% K verlangt; P. Karrer und Mitarbeiter haben 4.5 und 4.35% gefunden, A. Tschirsch und Cederberg¹⁰⁾ 4.37%, wir selbst 4.38%. Auch die von P. Karrer und Mitarbeiter mitgeteilten Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte zeigen, daß diese Bearbeiter das Salz mit 2 Mol. Krystallwasser in Händen hatten. Die von ihnen angeführten Schwierigkeiten für die Aufstellung einer Formel der Glycyrrhizinsäure gehen also nur auf die für die Glycyrrhetinsäure aufgestellte Formel $C_{45}H_{72}O_6$ zurück¹¹⁾.

⁸⁾ A. 197, 105 [1897].

⁹⁾ Eine Bestätigung bringen auch die Mengenverhältnisse der Bestandteile bei einer in der folgenden Arbeit angeführten Spaltung.

¹⁰⁾ Arch. Pharmaz. 245, 97 [1907].

¹¹⁾ L. Ruzicka u. H. Leuenberger haben irrtümlich als von P. Karrer entwickelte Formel $C_{45}H_{72}O_5$ angeführt. Die von P. Karrer angegebenen Formeln mit nur 5 O-Atomen sollen sich auf ein Desoxy-Glycyrrhetin beziehen.

Die Abspaltung der als Zucker in der Glycyrrhizinsäure enthaltenen beiden Mol. einer Hexuronsäure ist bisher ausnahmslos durch Erhitzen mit wäßrigen Säuren in den verschiedensten Konzentrationen entweder offen oder im Autoklaven erfolgt. Abgesehen von der weitgehenden Zersetzung der Zuckeranteile¹²⁾ fällt die so abgespaltene Glycyrrhetinsäure durch Zersetzungsprodukte stark verunreinigt an, so daß die Reinigung des Rohproduktes durch Krystallisation ziemlich verlustreich ist. L. Ruzicka und H. Leuenberger haben durch Hydrolyse eines Kaliumsalzes der Glycyrrhizinsäure — nach ihren Versuchsbedingungen wahrscheinlich das Trikaliumsalz — eine Roh-Glycyrrhetinsäure erhalten, zu deren Reinigung sie den Weg über ein Acetat wählten. Wir selbst sind von dem von uns in großen Mengen rein hergestellten Mono-Ammoniumsalz der Glycyrrhizinsäure ausgegangen und haben mit 1-proz. Schwefelsäure eine in Blättchen krystallisierende Glycyrrhetinsäure vom Schmp. 283° erhalten. Von dieser von uns zunächst als α -Glycyrrhetinsäure bezeichneten Substanz wurden außer dem Natrium- und Kaliumsalz ein Acetyl-Derivat und die Methyl- und Äthylester durch Veresterung mit dem betreffenden Alkohol hergestellt. Diese beiden Ester sind nach Schmelzpunkt und Drehwert identisch mit den Produkten, die auf anderem Wege direkt aus dem Mono-Ammoniumsalz der Glycyrrhizinsäure erhältlich sind. Auf Grund der Untersuchungen von W. Voss, W. Wachs und H. Heisig¹³⁾ über die Alkohololyse der glykosidischen Bindung, die viel leichter als die Hydrolyse erfolgt, wurde das Ammoniumsalz mit methyl- oder äthylalkoholischer Salzsäure gespalten. Die betreffenden Ester der Glycyrrhetinsäure fallen dabei schön krystallin und schon als Rohprodukte fast analysenrein an.

Die analytischen Daten der Glycyrrhetinsäure und der eben angeführten Derivate stimmen auf eine Formel $C_{30}H_{46}O_4$. Für das mit 470 gerade zwischen den Werten von P. Karrer (708) und F. Bergmann (360) liegende Molekulargewicht sprechen nicht nur die Ergebnisse der am Methylester in Äthylbromid und Alkohol durchgeführten Molekulargewichtsbestimmungen, sondern auch die Titrationswerte der Säure; der Ester verhält sich bei beiden angewandten Methoden der Mol.-Gew.-Bestimmung normal, die Erörterung eines anomalen Verhaltens in den beiden benutzten Lösungsmitteln scheidet aus, da die analytisch ermittelten Methoxylwerte zum gleichen Molekulargewicht führen. Weiter ist der Annahme von Störungen bei der titrimetrischen Bestimmung des Äquivalentwertes durch eine partielle hydrolytische Spaltung der Salze entgegenzuhalten, daß die analytischen Kalium- oder Natrium-Bestimmungen der reinen Salze mit dem Ergebnis der Titration übereinstimmen. Tab. 1 zeigt die für die einzelnen Stoffe berechneten und experimentell ermittelten Mol.-Gewichte.

Weiter stellte sich heraus, daß die Glycyrrhetinsäure nur eine Hydroxylgruppe besitzt. Es geht dies aus dem Acetylgehalt einer Acetyl-glycyrrhetinsäure und aus der Bestimmung der aktiven Wasserstoffatome nach Zerewitinoff im Methylester der Glycyrrhetinsäure hervor. Die letztgenannten Bestimmungen wurden in Isoamyläther bei höherer Temperatur vorgenommen, was schon wegen der Löslichkeit der Substanz nötig war. Es ist daher kaum anzunehmen, daß nur ein Teil der vorhandenen H-Atome in Reaktion getreten

¹²⁾ s. dazu die nachstehende Arbeit.

¹³⁾ A. 522, 240, 261 [1936].

Tabelle 1.

	Ber.	Gef.	
Glycyrrhetinsäure	470.36	476	aus Titration
Natriumsalz	492.35	518	aus Na-Best.
Kaliumsalz	508.5	509	aus K-Best.
Methylester	484.4	485 } 472 } 460 } 506 } 515 }	Mol.-Gew. in Äthylenbromid in Alkohol aus Methoxyl-Best.
Äthylester	498.4	478 } 509 }	aus Äthoxyl-Best.

ist¹⁴⁾. P. Karrer und Mitarbeiter haben, was bei ihrem erheblich vergrößerten Molekulargewicht auch verständlich ist, ein Diacetyl-Derivat der Glycyrrhetinsäure annehmen müssen, während F. Bergmann, der mit der halbierten Mol.-Größe arbeitet, auch schon ein Mono-acetyl-Derivat angenommen hat.

Die Glycyrrhetinsäure verhält sich nach unseren Befunden gesättigt, was mit den Befunden von F. Bergmann und auch L. Ruzicka übereinstimmt. Die Formel $C_{30}H_{46}O_4$ ist also aufzulösen in $C_{29}H_{44}O(OH).(CO_2H)$. Für die Frage nach der Funktion des 4. Sauerstoffatoms ist wichtig, daß Carbonyl-Reagenzien wie Hydroxylamin und Semicarbazid nicht angesprochen haben. Es bliebe dann einstweilen nur die Annahme eines Oxydringes übrig.

Für die Formel $C_{30}H_{46}O_4$ gilt weiter folgende Überlegung: 30 C-Atome würden bei einem gesättigten Kohlenwasserstoff 62 H-Atome verlangen; es ist also unter Berücksichtigung der Carboxylgruppe eine Differenz von 14 H-Atomen durch Cyclisierungen bzw. Doppelbindungen zu erklären. L. Ruzicka hat zur Erklärung des Ausbleibens von Reaktionen der Doppelbindung ein hexacyclisches Ringsystem in Erwägung gezogen. 6 reine Kohlenstoffringe und 1 Oxydring würden wohl auch ohne die Annahme einer maskierten Doppelbindung die Differenz von 14 H-Atomen erklären können. Man kommt aber bei dem Versuch, spekulativ unter Anlehnung an die bisher in dieser Gruppe diskutierten Kohlenstoffskelette ein derartiges System zu konstruieren, in gewisse Schwierigkeiten wegen der Zahl der vorhandenen C-Atome. Denn es sind nicht alle C-Atome für die Ringbildung in Betracht zu ziehen; einige Methylgruppen, etwa 3 bis 4, sind im Hinblick auf einige Befunde von P. Karrer und von L. Ruzicka bestimmt auch hier vorhanden. Diese Schwierigkeit wird noch vergrößert, wenn man mit L. Ruzicka die wasserstoffärmere Formel $C_{30}H_{44}O_4$ anwenden will. Wir möchten daher aus dieser Überlegung heraus bis zur Beibringung von weiterem neuen Versuchsmaterial unsere Formel mit 46 H-Atomen beibehalten.

Zur anfangs erwähnten Frage der Isomerie oder Polymorphie der Glycyrrhetinsäure und ihrer Abkömmlinge seien folgende Beobachtungen mitgeteilt: Die durch Hydrolyse erhaltene Säure vom Schmp. 283° ließ sich durch Ver-

¹⁴⁾ Ein weiteres Argument für die Anwesenheit nur einer Hydroxylgruppe findet sich in der folgenden Arbeit, die sich mit der näheren Untersuchung des Zuckeranteils der Glycyrrhizinsäure befaßt.

esterung in einen Methylester vom Schmp. 229⁰ überführen; ein Methylester vom gleichen Schmelzpunkt wurde durch die Alkohololyse des glycyrrhizinsäuren Ammoniums erhalten. Durch Acetylierung der bei 283⁰ schmelzenden und als α -Glycyrrhetinsäure bezeichneten Substanz wurde eine bei 308⁰ schmelzende α -Acetyl-glycyrrhetinsäure erhalten. Produkte mit anderen Konstanten wurden ausgehend von einer bei 296⁰ schmelzenden β -Glycyrrhetinsäure erhalten, so durch Veresterung ein β -Methylester, Schmp. 251⁰, und eine β -Acetyl-glycyrrhetinsäure, Schmp. 291⁰. Unterschiede bestehen aber auch bei den in absol. Alkohol bestimmten spezifischen Drehungen. In Tab. 2 sind die einzelnen von uns beobachteten Schmelzpunkte¹⁵⁾ und spezifischen Drehungen neben den von P. Karrer, F. Bergmann und W. Ruzicka angegebenen Zahlen zusammengestellt.

Tabelle 2.

		α	β	P. Karrer	F. Bergmann ¹⁶⁾	L. Ruzicka ¹⁶⁾	
Säure	Schmp.	283 ⁰	296 ⁰	297—298 ⁰	303 ⁰	287—293 ⁰	300—304 ⁰
	$[\alpha]_D$	+140 ⁰	+86 ⁰		+145 ⁰	Dioxan	+161 ⁰
Methylester	Schmp.	229 ⁰	251 ⁰	241 ⁰	255 ⁰	+163 ⁰	+161 ⁰
	$[\alpha]_D$	+108.5 ⁰	+90 ⁰		+165 ⁰	Dioxan	CHCl ₃
Acetyl-Deriv. d. Säure	Schmp.	308 ⁰	291 ⁰	317—318 ⁰	317—318 ⁰	259 ⁰	309—313 ⁰
	$[\alpha]_D$	+122 ⁰	+109 ⁰		+144.6 ⁰		CHCl ₃

Die β -Glycyrrhetinsäure fiel in Nadeln bei der Behandlung des α -Glycyrrhetin-methylesters mit alkoholischem Kali neben unverändert gebliebenem α -Methylester an. Der höhere Schmelzpunkt, die spezif. Drehung und das Ergebnis der alkalimetrischen Titration machen die Annahme, daß in der erhaltenen β -Säure Mischkrystalle etwa von α -Säure und α -Methylester vorliegen, wenig wahrscheinlich. Zwei im Schmelzpunkt ebenfalls um 10—12⁰ auseinanderliegende Säuren von entsprechender äußerer Krystallform haben auch W. Ruzicka und H. Leuenberger gefunden, allerdings zum Unterschied von uns mit unter sich gleicher spezifischer Drehung. Außerdem konnten die beiden Autoren beide Formen durch Krystallisation wechselseitig ineinander überführen. Wir halten das bisherige Versuchsmaterial für eine Entscheidung der Frage, ob hier Polymorphie oder Isomerie vorliegt, noch für zu eng. Im Hinblick auf das Bestehenbleiben der Unterschiede in Schmelzpunkt und spezifischer Drehung nach Veresterung oder Acetylierung der beiden Formen der Glycyrrhetinsäure bevorzugen wir zunächst die Annahme einer Isomerie, die vielleicht noch von anderen Erscheinungen überlagert sein kann.

¹⁵⁾ unkorrt.¹⁶⁾ Die Schmelzpunktsangaben von F. Bergmann und L. Ruzicka sind korrigiert.

Beschreibung der Versuche.

Als Ausgangsmaterial wurde Glycyrrhizinum ammoniacale der Fa. E. Merck benutzt. Von den beiden Handelsqualitäten ist die mit venale bezeichnete Ware in großen Schuppen weniger geeignet als die kleinstückige Qualität. Die auf Grund von Uronsäure-Bestimmungen nach Lefèvre¹⁷⁾ anzunehmenden Gehalte an Glycyrrhizinsäure mit etwa 21 % und 32 % sind nicht so verschieden, um die erheblichen Unterschiede der Ausbeuten an reinen Endprodukten erklären zu können. Man kommt bei Anwendung der besseren Qualität mit wenigen Krystallisationen zum Ziel, so daß die höheren Aufwendungen für das Ausgangsmaterial durch die Ausbeute und Ersparnis an Lösungsmitteln ausgeglichen werden.

Mono-Ammoniumsalz der Glycyrrhizinsäure.

500 g Glycyrrhizinum ammoniacale wurden in 1250 ccm Eisessig unter gutem Umschütteln und langsamem Erwärmen bis zum Sieden gelöst und die Lösung 3 Tage zur Krystallisation stehen gelassen. Der abgesaugte Krystallbrei wurde erneut aus 625 ccm Eisessig umgelöst. Nach dem Absaugen und Trocknen im Vakuumexsiccator über Ätzkalk und Kaliumhydroxyd wurden 160 g eines hellbraunen Pulvers erhalten, die aus 96-proz. Alkohol 2-mal umkrystallisiert wurden (Zusatz von A-Kohle bei der 1. Krystallisation). Dabei wurden 20 g in etwa 2.5 l Alkohol heiß gelöst und die Lösung wegen der rasch einsetzenden Krystallisation durch einen Dampftrichter filtriert. Aus der ersten alkoholischen Lösung fiel das Ammoniumsalz schon in rein weißen Schuppen aus. Erhalten: 105 g, nach der 2. Krystallisation 85 g. Durch Auskochen der verwandten A-Kohle mit Alkohol ließ sich die Ausbeute auf 92 g erhöhen (18.4 %, bezog. auf Menge des Ausgangsmaterials bzw. 54 %, bezog. auf den Gehalt an Glycyrrhizinsäure).

Das so erhaltene glycyrrhizinsäure Ammonium hält aber Reste von Essigsäure sehr zäh fest, was weniger aus den analytischen Daten als aus den Ergebnissen der Titration mit n_{10} -Natronlauge hervorgeht. Zur völligen Entfernung der Essigsäure wurde das Ammoniumsalz im Soxhlet mit Äther extrahiert und dabei dem Äther im Siedekolben einige Stückchen Natrium zugesetzt.

Zur Analyse wurde das etwas hygroskopische Salz im Vak. bei 78° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

30.21 mg Sbst.: 66.45 mg CO₂, 21.6 mg H₂O. — 0.2356 g Sbst.: 2.76 ccm n_{10} -H₂SO₄ (alkalische Destillation in Kjeldahl-Apparatur¹⁸⁾).

C₄₂H₆₅O₁₆N (839.52). Ber. C 60.04, H 7.80, N 1.67.

Gef. „ 59.99, „ 8.00, „ 1.64.

Zur Titration wurde das Salz in der Hitze in überschüss. n_{10} -Natronlauge gelöst und heiß mit n_{10} -H₂SO₄ und Phenolphthalein als Indicator zurücktitriert.

0.3272, 0.2362 g Sbst.: 11.6, 8.35 ccm n_{10} -NaOH.

Ber. 35.73 ccm n_{10} -NaOH pro g Sbst. für 3 Äquivalente Alkali, gef. 35.8, 35.4 ccm. Mol.-Gew. aus Titrationen: 837.0, 847.6; aus N₂-Gehalt: 854.8.

$[\alpha]_D^{25}$: +1.03° × 2.904/1 × 0.0730 × 0.947 = +43.3° in Wasser.

¹⁷⁾ van der Haar, Anleitung zum Nachweis usw., Berlin 1922, S. 71.

¹⁸⁾ Eine Stickstoff-Bestimmung nach Dumas ist wegen der Befunde von P. Karrer u. Mitarb., Helv. chim. Acta 4, 108 [1921] über die Bildung von Methan bei der Verbrennung dieser Substanzen ungeeignet. Diese Methanbildung kann als Störungsquelle bei der Elementaranalyse nur durch eine sehr langsam durchgeführte Verbrennung zurückgedrängt werden.

Aus dem zur Krystallisation verwandten Alkohol lassen sich durch Eindampfen keine weiteren Mengen Ammoniumsalz gewinnen. Erst nach Konzentration bis zur Sirupkonsistenz erfolgte Umwandlung in einen dicken Krystallbrei. Diese Krystalle sind in kaltem Alkohol leicht löslich und bestehen aus freier Glycyrrhinsäure, der, wie nach dem Stickstoff-Gehalt anzunehmen ist, nur sehr geringe Mengen des Ammoniumsalzes beigemengt sind. Aus der alkohol. Lösung dieses Produktes fällt durch Zugabe geringer Mengen Ammoniak das Ammoniumsalz der Säure aus, das nach Umlösen aus Alkohol völlig rein ist. Die Ausbeute an krystallinem Ammoniumsalz aus Glycyrrhizinum ammoniacale wird dadurch noch erhöht.

Glycyrrhizinsäure.

20 g des Ammoniumsalzes wurden fein zerrieben, mit wenig Wasser zu einem dünnen Brei angeteigt und inzwischen 1.5 l 1-proz. Schwefelsäure auf dem Wasserbade erwärmt. Nach Eintragen des Salzes in die Säure unter Umschwenken des Gefäßes erfolgte klare Lösung. Nach 1-stdg. Erwärmen auf dem Wasserbade begann die Abscheidung der Glycyrrhizinsäure in feinen, seidig glänzenden Kryställchen, die abgetrennt und mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen wurden. Erhalten: 16 g. Der Stickstoffgehalt der Substanz zeigte an, daß noch etwa 10% des Salzes beigemengt waren. Zu dessen Entfernung wurde 3-mal mit je $\frac{1}{2}$ l destilliertem Wasser ausgekocht und eine stickstoff-freie Substanz erhalten, deren spezif. Drehung in absol. Äthylalkohol aber $[\alpha]_D^{25}$: $\pm 61.4^\circ$ und $\pm 61.8^\circ$ war. Dieser etwas zu hohe Wert geht auf einen Gehalt an Glycyrrhetinsäure zurück. Zur Entfernung dieser durch eine teilweise Abspaltung der Zucker entstandenen Beimengung wurde die feingepulverte Substanz mehrere Stunden im Soxhlet mit Chloroform extrahiert. Der Chloroform-Auszug (4%) war in Alkohol leicht löslich und zeigte in absol. Äthylalkohol die spezif. Drehung $[\alpha]_D^{25}$: $\pm 101^\circ$.

Die in Chloroform unlösliche Glycyrrhizinsäure zeigte nach dem Trocknen im Vak. bei 80° bis zur Gewichtskonstanz folgende Daten:

30.79, 32.49 mg Sbst.: 67.90, 71.80 mg CO_2 , 20.3, 21.1 mg H_2O . — 0.1896, 0.1128 g Sbst. verbraucht. 6.9, 4.1 ccm n_{10} -NaOH.

$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$ (822.5). Ber.	C 61.28,	H 7.60,	36.48	ccm n_{10} -NaOH prog.
$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16} + 2\text{H}_2\text{O}$ (858.5). Ber.,	58.71,	„ 7.74,	34.95	„ „ „ g.
Gef.,	60.14, 60.27,	„ 7.37, 7.60,	36.4, 36.4	„ „ „ g.

Mol.-Gew. aus Titration: 824.

Auf Grund der Titrationsergebnisse ist anzunehmen, daß die krystallwasserfreie Säure vorlag und die etwas zu niedrigen Kohlenstoffwerte durch den Verlauf der Verbrennung (Ter Meulen) hervorgerufen sind.

$[\alpha]_D^{25} = +1.62^\circ \times 1.790/1 \times 0.0626 \times 0.789 = +58.5^\circ$ in absol. Alkohol.

$[\alpha]_D^{25} = +1.57^\circ \times 1.555/1 \times 0.0526 \times 0.789 = +58.6^\circ$ in absol. Alkohol.

Bisher konnte die Glycyrrhizinsäure nur aus Eisessig unkrystallisiert werden, die restlose Entfernung der den Krystallen zäh anhaftenden Essigsäure bereitet aber Schwierigkeiten. Alle Versuche zur Krystallisation aus anderen Lösungsmitteln sind bisher fehlgeschlagen.

Aus der in Alkohol leicht löslichen Säure lassen sich das Mono-Ammonium- und Mono-Kaliumsalz leicht herstellen, wenn man zu einer Lösung von 1 g in 20 ccm Äthylalkohol einige Tropfen einer alkohol. Lösung von Ammoniak, Ammoniumacetat oder Kaliumacetat gibt. Anfangs amorphe Fällungen

können nach Zugabe weiterer Mengen Alkohol und längerem Erwärmen auf dem Wasserbade krystallin erhalten werden.

Tri-Kaliumsalz der Glycyrrhizinsäure.

10 g des Ammoniumsalzes wurden in eine Lösung von 1.5 g Kaliumhydroxyd in 50 ccm eines Alkohol-Wasser-Gemisches (2:1) gegeben und das Gemisch 2½ Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt. Nach Zugabe von 500 ccm absol. Alkohol blieb die gelbliche Lösung zur Abscheidung des Kalisalzes über Nacht stehen. Nach Abfiltrieren, Waschen mit Alkohol und Äther wurden 10.7 g eines schwach gelblichen Pulvers erhalten.

30.13, 32.79 mg Stbst.: 56.46, 61.72 mg CO₂, 16.5, 18.1 mg H₂O. — 0.5176 g Stbst.: 0.1402 g K₂SO₄.

C₄₂H₅₀O₁₆K₃ + 2H₂O (972.8). Ber. C 51.81, H 6.53, K 12.06.

Gef. „ 51.11, 51.34, „ 6.13, 6.18, „ 12.16.

Mol.-Gew. aus Kalium-Best.: 964.8.

$[\alpha]_D^{20} = +1.22^0 \times 2.265/1 \times 0.0651 \times 0.947 = +44.8^0$ in Wasser.

Mono-Kaliumsalz der Glycyrrhizinsäure.

5 g Tri-Kaliumsalz wurden in 20 ccm Eisessig heiß gelöst; die ausgeschiedenen Krystalle wurden nach 24 Stdn. abgetrennt und mit Eisessig, Alkohol und Äther gewaschen. Erhalten: 4.2 g. Das Produkt besaß einen Kaliumgehalt, der mit 4.12% nur wenig unter dem theoret. Wert lag. Die zu hohen Werte bei der Titration mit wäbr. Alkali zeigten einen Restgehalt an Eisessig an, der nach 2-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol wohl verringert, aber nicht vollständig beseitigt war. Die völlige Entfernung gelang erst durch 18-stdg. Extraktion mit Äther im Soxhlet unter Zusatz von Natrium im Siedekolben.

31.79, 5.084 mg Stbst.: 65.29, 10.37 mg CO₂, 19.3, 3.50 mg H₂O. — 0.2804 g Stbst.: 0.0307 g K₂SO₄. — 0.1122 g Stbst. verbraucht. 2.56 ccm n₁₀-NaOH.

C₄₂H₆₁O₁₆K + 2H₂O (896.6).

Ber. C 56.21, H 7.31, K 4.36, 22.30 ccm n₁₀-NaOH pro g.

Gef. „ 55.01, 55.63, „ 6.79, 7.70, „ 4.38, 22.80 „ „ „ g.

Mol.-Gew. aus Titration: 875.5. Mol.-Gew. aus K-Best.: 892.5.

$[\alpha]_D^{20} = +1.17^0 \times 3.436/1 \times 0.0974 \times 0.947 = +43.5^0$ in Wasser.

α-Glycyrrhetinsäure durch Hydrolyse des glycyrrhizinsäuren Ammoniums.

10 g Salz wurden mit 1 l 1-proz. wäbr. Schwefelsäure 4 Stdn. im Autoklaven erhitzt (Ölbadtemperatur: 150—155°). Aus der hellbraunen Lösung hatte sich ein hellgrauer, amorpher Bodensatz abgeschieden. Zur Reinigung wurde die rohe Glycyrrhetinsäure 2-mal aus Alkohol umkrystallisiert, das erste Mal unter Zusatz von A-Kohle. Man löst dazu heiß in der 10-fachen Menge Alkohol und setzt zur Lösung das gleiche Volumen heißen Wassers. Die rechteckige Blättchen bildende Säure wurde in einer Ausbeute von 60% des Rohproduktes erhalten. Schmp. 283°. In Alkohol, Äther und Eisessig löslich, in Wasser unlöslich.

4.685 mg Stbst.: 13.135 mg CO₂, 4.130 mg H₂O. — 0.1080 mg in 10 ccm Alkohol verbraucht. 2.27 ccm n₁₀-alkohol. KOH.

C₃₀H₄₆O₄ (470.36). Ber. C 76.53, H 9.86, 21.26 ccm n₁₀-KOH pro g.

Gef. „ 76.46, „ 9.86, 21.01 „ „ „ g.

Mol.-Gew. aus Titration: 476.

$[\alpha]_D^{20} = +1.33^0 \times 2.42/1 \times 0.0293 \times 0.789 = +140^0$ in absol. Äthylalkohol.

Umsetzungen der α -Glycyrrhetinsäure.

Natriumsalz: Zu einer Lösung von 1.1 g der Säure in 7 ccm Äthylalkohol wurde 1 ccm einer Natriumalkoholat-Lösung gegeben, die durch Eintragen von 1 g Natrium in 20 ccm Äthylalkohol erhalten worden war. Bei Anwendung von überschüss. Alkali wurde die Lösung hellgelb, die Gelbfärbung verschwand aber nach Zugabe einer entspr. Menge von Glycyrrhetinsäure. Nach Zugabe von 50 ccm Äther krystallisierte ein nur schwach gelbliches Natriumsalz aus. Schmp. 303—304°.

0.3164 g Sbst.: 0.0434 g Na_2SO_4 .

$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Na}$ (492.35). Ber. Na 4.67. Gef. Na 4.44.

Mol.-Gew. aus Na-Best.: 518.

$[\alpha]_D^{20} = +1.10^\circ \times 2.47/1 \times 0.0265 \times 0.787 = +130^\circ$ in absol. Äthylalkohol.

Zur Freisetzung der Säure aus dem Natriumsalz wurde die Lösung von 0.1 g in 20 ccm 50-proz. wäßr. Alkohol mit 1.5 ccm 1-proz. Schwefelsäure versetzt. Schmp. nach Umkrystallisieren aus Alkohol: 282°.

$[\alpha]_D^{19} = +1.33^\circ \times 2.01/1 \times 0.0249 \times 0.790 = +136^\circ$.

Kaliumsalz: 1 g Säure wurde in 7 ccm Alkohol heiß gelöst und dazu 1.4 ccm einer 10-proz. alkohol. Lösung von Kaliumhydroxyd gegeben. Krystallisation des Salzes nach Zugabe von 50 ccm Äther. Schmp. 293°.

0.3004 g Sbst.: 0.0514 g K_2SO_4 .

$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{K}$ (508.45). Ber. K 7.69. Gef. K 7.68.

Mol.-Gew. aus K-Best.: 509.

$[\alpha]_D^{20} = +1.07^\circ \times 1.98/1 \times 0.0291 \times 0.789 = +92.4^\circ$ in absol. Äthylalkohol.

Acetyl- α -glycyrrhetinsäure: 2.5 g α -Glycyrrhetinsäure, 10 g entwässertes Natriumacetat und 40 ccm Essigsäure-anhydrid wurden $2\frac{1}{2}$ Stdn. auf dem Wasserbade erhitzt und danach in Wasser gegossen. Das Rohprodukt (2 g) wurde 3-mal aus Alkohol, das erste Mal unter Verwendung von A-Kohle, umkrystallisiert. Schmp. 308°.

29.65 mg Sbst.: 81.42 mg CO_2 , 24.6 mg H_2O . — 70.85 mg Sbst.: 2.78 ccm n_{20}^{NaOH} (Acetyl-Best. n. Freudenberg).

$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_5$ (512.32). Ber. C 74.95, H 9.43, CH_3CO 8.40.

Gef. „ 74.89, „ 9.28, „ 8.64.

$[\alpha]_D^{20} = +0.60^\circ \times 5.17/1 \times 0.0323 \times 0.788 = +122^\circ$ in absol. Alkohol.

Methylester der α -Glycyrrhetinsäure: Aus der Säure durch 3-stdg. Erwärmen mit der 5-fachen Menge 3-proz. methylalkohol. Salzsäure. Die erhaltenen langen, feinen Nadelchen sind nach einmaliger Krystallisation aus Alkohol in der bei der Säure beschriebenen Weise rein. Schmp. 229°.

$[\alpha]_D^{20} = +1.14^\circ \times 2.16/1 \times 0.0293 \times 0.789 = +106^\circ$ in absol. Alkohol.

Nach Drehwert und Schmelzpunkt identisch mit dem weiter unten beschriebenen, aber auf anderem Wege gewonnenen α -Methylester.

Äthylester der α -Glycyrrhetinsäure: Aus der Säure mit alkohol. Säure. Nach 2-mal. Krystallisation aus Alkohol/Wasser-Gemisch (1:3). Schmp. 204°.

30.10 mg Sbst.: 84.90 mg CO_2 , 26.4 mg H_2O . — 29.78 mg Sbst.: 3.74 ccm $n_{10}^{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8}$ (Methode v. Vieböck u. Schwappach). — 0.1165 g Sbst.: 0.0538 g AgJ.

$\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$ (498.39). Ber. C 77.05, H 10.11, OC_2H_5 9.04.

Gef. „ 76.92, „ 9.89, „ 9.43, 8.86.

Mol.-Gew. aus Äthoxyl-Best.: 478, 509.

$[\alpha]_D^{20} = +1.58^\circ \times 1.956/1 \times 0.0337 \times 0.788 = +116^\circ$ in absol. Alkohol.

Ester der α -Glycyrrhetinsäure durch Alkoholyse des glycyrrhizinsäuren Ammoniums.

Methylester: Eine Lösung von 3 g Salz in 20 ccm einer 3-proz. methylalkohol. Salzsäure wurde 18 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen und mehrstdg. Stehenlassen im Eisschrank war der Kolbeninhalt durch Auskrystallisieren des α -Glycyrrhetinsäure-methylesters vollständig erstarrt. Ausbeute: 1.5 g. Nach Umlösen aus wäbr. Alkohol in der oben beschriebenen Weise: Schmp. 229°.

Leicht löslich in Eisessig, Äther, Chloroform, Aceton, Benzol und Essigester. Unlöslich in Wasser und Petroläther.

29.72, 4.750 mg Sbst.: 87.47, 13.285 mg CO₂, 27.4, 4.210 mg H₂O. — 28.95, 38.65 mg Sbst.: 3.43, 4.48 ccm n_{10}^2 -Na₂S₂O₃ (Methode v. Vieböck u. Schwappach). — 0.1721, 0.2253 g Sbst. in 21.58, 21.50 g Äthylbromid: $\Delta = 0.206, 0.278^\circ$. — 0.0164 g Sbst. in 4.5 ccm absol. Alkohol, Siedepunktserhöhung: 0.012° (Apparatur v. Sucharda-Bohransky).

C₃₁H₄₈O₄ (484.38). Ber. C 76.80, H 9.99, OCH₃ 6.40.
Gef. „ 76.62, 76.25, „ 9.64, 9.91, „ 6.13, 5.99.

Mol.-Gew. 485, 472 (Äthylbromid), 460 (Alkohol), 506, 515 (aus Methoxylwert).

$[\alpha]_D^{20} = +1.17^\circ \times 2.05/1 \times 0.0280 \times 0.789 = +168.5^\circ$ in absol. Alkohol.

Bestimmung des aktiven Wasserstoffs n. Zerewitinoff: 0.103, 0.118, 0.149 g Sbst. (in Isoamyläther bei 80°): 5.15 (20°, 754.5 mm), 6.40 (21°, 753 mm), 7.9 (20°, 749 mm) ccm CH₄. Entspr. 1.00; 1.10 u. 1.07 Mol. CH₄.

Prüfung auf Carbonylgruppen: 1 g Methylester in Methanol heiß gelöst und dazu wäbr. Lösungen von äquivalenten Mengen Hydroxylamin-Hydrochlorid bzw. Semicarbazid-Hydrochlorid und Natriumacetat gegeben. Zurückgewonnen wurde nach Schmelzpunkt und Mischproben der unveränderte Ester.

Äthylester: In der gleichen Weise durch Spaltung mit 3-proz. äthylalkohol. Salzsäure. Schmp. nach dem Umkrystallisieren: 204°.

$[\alpha]_D^{20} = +1.42^\circ \times 1.90/1 \times 0.0302 \times 0.789 = +114^\circ$ in absol. Äthylalkohol.

β -Glycyrrhetinsäure.

Eine Lösung von 2 g α -Glycyrrhetinsäure-methylester in 100 ccm 96-proz. Äthylalkohol wurde mit 5 ccm 40-proz. wäbriger Kalilauge versetzt und 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Aus der allmählich gelb gewordenen Lösung fielen nach Zugabe von 100 ccm Wasser 1.2 g unveränderter α -Glycyrrhetinsäure-methylester aus, der nach dem Umkrystallisieren bei 229° schmolz. Nach dem Abtrennen des Esters wurde die alkalische wäbrig-alkohol. Lösung zum Sieden erhitzt und mit 10-proz. Schwefelsäure neutralisiert, wobei die Lösung wieder farblos wurde. Aus der abgekühlten Lösung krystallisierte die β -Glycyrrhetinsäure mit Kaliumsulfat vermengt aus. Zu dessen Abtrennung wurde die abgesaugte Krystallmasse mit 50 ccm absol. Alkohol extrahiert. Die aus diesem durch Zugabe des gleichen Volumens Wasser in Nadeln erhaltene Glycyrrhetinsäure zeigte nach nochmaliger Krystallisation aus Alkohol/Wasser den Schmp. 296°. Mischprobe mit der α -Säure vom Schmp. 283°: 255° Beginn, 285° klar geschmolzen.

31.46 mg Sbst.: 87.67 mg CO₂, 27.1 mg H₂O.

C₃₆H₄₆O₄ (470.36). Ber. C 76.53, H 9.86. Gef. C 76.00, H 9.64.

$[\alpha]_D^{20} = +0.34^\circ \times 6.06/1 \times 0.0305 \times 0.788 = +86^\circ$ in absol. Äthylalkohol.

Bei der Titration verbraucht 0.1017 g Sbst. 2.09 ccm n_{10}^2 -alkohol.-KOH. Ber. 2.16 ccm.

β -Glycyrrhetinsäure-methylester.

Durch Kochen von 0.7 g β -Glycyrrhetinsäure in 10 ccm 3-proz. methylalkohol. Salzsäure. Der in feinen, langen Nadeln abgeschiedene Ester zeigte nach 2 Krystallisationen aus wäßr. Alkohol den Schmp. 251°. Bei der Titration kein Verbrauch an Alkali.

$$[\alpha]_D^{20} = +0.75^\circ \times 3.22/1 \times 0.0340 \times 0.789 = +90^\circ \text{ in absol. Äthylalkohol.}$$

Acetyl- β -glycyrrhetinsäure.

Aus 2.5 g β -Glycyrrhetinsäure in der bei der α -Säure beschriebenen Art. Schmp. 291°.

31.87 mg Subst.: 87.25 mg CO₂, 25.8 mg H₂O.

C₃₂H₄₈O₅ (512.32). Ber. C 74.95, H 9.43. Gef. C 74.67, H 9.06.

$$[\alpha]_D^{20} = +0.75^\circ \times 2.785/1 \times 0.0243 \times 0.789 = +109^\circ \text{ in absol. Alkohol.}$$

26. W. Voss und J. Pfirschke: Über ein neuartiges Disaccharid als Zuckeranteil des Glycyrrhizins (II. Mitteil. über Glycyrrhizin).

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Universität u. d. Techn. Hochschule Breslau.]
(Eingegangen am 15. Dezember 1936.)

Bis vor kurzer Zeit bestanden keine Zweifel darüber, daß in der Glycyrrhizinsäure als Zuckerkomponente die *d*-Glucuronsäure enthalten sei. Diese Ansicht stützte sich im wesentlichen auf die Angaben in einer Arbeit von A. Tschirsch und S. Gauchmann¹⁾, in der der Nachweis dieser Hexuronsäure als vollkommen gesichertes Ergebnis angeführt wird. Neben Nachweisen, wie die wenig spezifische Farbreaktion mit Naphthoresorcin, die Furfurolbildung bei der Behandlung mit Salzsäure und andere Reaktionen, schließen die beiden Autoren auf die Anwesenheit der *d*-Glucuronsäure aus der Isolierung einer von ihnen krystallin erhaltenen und als Lacton der Säure angesprochenen Substanz. Die Zahlen der Elementaranalyse stimmen wohl auf ein Lacton, der Schmelzpunkt liegt aber unter den Werten des Glucurons, und eine Kontrolle durch die spezifische Drehung ist nicht erfolgt. Nur die starke Linksdrehung, allerdings auch ohne Zahlenwerte, eines Umsetzungsproduktes mit *p*-Brom-phenylhydrazin wird erwähnt.

Bei der von uns begonnenen Untersuchung der Glycyrrhizinsäure haben wir gerade der Zuckerkomponente besondere Aufmerksamkeit gewidmet.

Bei den ersten Versuchen der Spaltung der Glycyrrhizinsäure in wäßriger verdünnter Säure haben wir eine überraschend leichte Zersetzung der enthaltenen Uronsäure beobachtet. Bei der in der voranstehenden Arbeit angeführten Hydrolyse mit 1-proz. wäßriger Schwefelsäure ist, wie man durch sinngemäße Anwendung der Uronsäure-Bestimmungsmethode von Lefèvre auf das Hydrolysat nach Abtrennung der Glycyrrhetinsäure feststellen kann, die ursprünglich vorhandene Uronsäure bis auf wenig Procente zerstört. Die bei der Spaltung gewählten Reaktionsbedingungen entsprechen aber durchaus denen, die von anderer Seite zur Spaltung von Naturstoffen angewandt worden sind, die Galakturon- oder Glucuronsäure enthalten.

¹⁾ Arch. Pharmaz. **246**, 554 [1908].