

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 Stbst.: 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).

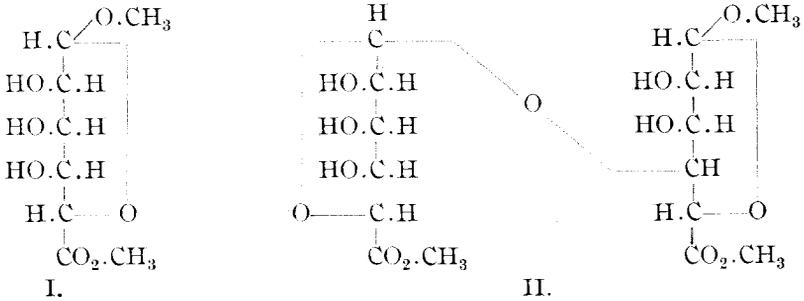
[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Universität u. d. Techn. Hochschule Breslau.]
(Eingegangen am 15. Dezember 1936.)

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].



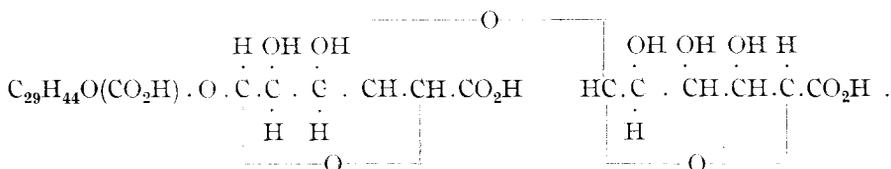
Dieser so viel leichter als bei den genannten Säuren erfolgende Zerfall der in der Glycyrrhizinsäure enthaltenen Hexuronsäure tritt auch noch bei der Spaltung des glycyrrhizinsäuren Ammoniums in methylalkoholischer Salzsäure bei Wasserbadtemperatur ein. Der sich in der Entwicklung von Kohlendioxyd zeigende Zerfall läßt sich quantitativ verfolgen, wenn man die Alkoholyse in einer Apparatur nach Lefèvre durchführt. Er war bei der Alkoholyse wohl geringer als bei der Hydrolyse, aber nach 3—4 Stdn. waren auch etwa $\frac{3}{4}$ der vorhandenen Hexuronsäuren zerfallen.

Ausgehend von der Überlegung, daß die Herausspaltung des Kohlendioxyds aus den Carboxylgruppen der Hexuronsäure zurückgedrängt bzw. ausgeschlossen werden kann, wenn die Carboxylgruppen durch Veresterung stabilisiert worden sind, wurde die Spaltung der Glycyrrhizinsäure bei niedriger Temperatur durchgeführt, so daß durch die methylalkoholische Salzsäure gleichzeitig eine Veresterung der Carboxylgruppen und eine Spaltung der glykosidischen Bindung mit dem Aglykon erfolgte. Erwartet wurde ein 1-Methyl-hexuronsäure-methylester (Formel I); das entsprechende Produkt, das also gleichzeitig Methylester und Methylglykosid ist, wurde vor einiger Zeit durch F. Ehrlich und R. Guttman²⁾ von der *d*-Galakturonsäure hergestellt, bei der *d*-Glucuronsäure fehlt das Produkt zur Zeit noch.

Die Spaltung der Glycyrrhizinsäure mit methylalkoholischer Salzsäure ist bei maximal 40° in etwa 100 Stdn. vollständig. Es ist aber besser, nicht, wie in der voranstehenden Arbeit, vom Ammoniumsalz auszugehen, sondern die freie Säure zu verwenden, da nach der Reaktion die Salzsäure mit Silbercarbonat aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden muß, und die Anwesenheit von Ammoniumsalz Anlaß zur Bildung störender löslicher Silberverbindungen gibt. Erhalten wurde dabei etwa $\frac{1}{3}$ der vorhandenen Hexuronsäuremenge als schön krystallines Produkt; im sirupösen Rest sind aber die Carboxyle der Hexuronsäure auch noch erhalten geblieben. Das krystalline Produkt besitzt aber das doppelte Molekulargewicht; es ist ein 1-Methyl-dihexuronsäure-dimethylester (Formel II). In den Formeln ist die räumliche Anordnung der alkoholischen Hydroxylgruppen willkürlich, in Formel II auch die sterische Konfiguration des glykosidischen Methoxyls (α oder β). Die Annahme der disaccharidischen 1,4-Verknüpfung ist eine aus Analogien abgeleitete Arbeitshypothese. Die Substanz ist das erste Beispiel eines bisher noch nicht aufgefundenen Disaccharid-Typs. Bei der Bildung durch Alkoholyse der Glycyrrhizinsäure ist also die glykosidische Bindung zwischen dem Aglykon und der nächststehenden Hexuronsäure gelöst, der Rest der Glycyrrhetinsäure

²⁾ B. 66, 220 [1933].

durch den Methoxylrest ersetzt worden und die glykosidische Disaccharidbindung zwischen den beiden Hexuronsäuren erhalten geblieben. Die Annahme, daß diese Verknüpfung der beiden Hexuronsäuren ursprünglich nicht vorhanden war, sondern erst sekundär entstanden ist, ist wohl im Hinblick auf die Reaktionsbedingungen wenig wahrscheinlich. Dazu kommt, daß die Glycyrrhetinsäure, wie in der voranstehenden Arbeit beschrieben ist, nur eine Hydroxylgruppe besitzt, so daß bei einem Mol.-Verhältnis von 2 Mol. Hexuronsäure zu einem Mol. Glycyrrhetinsäure in der Glycyrrhizinsäure, die beiden Mol. Hexuronsäure bestimmt schon disaccharidisch verknüpft im Glykosid eingebaut waren. Daß in der Glycyrrhizinsäure die Bausteine in diesem Mol.-Verhältnis enthalten sind, zeigen die quantitativen Hexuronsäure-Bestimmungen im ungespaltenen Glykosid³⁾ und die Menge des bei einer Alkohololyse erhaltenen Glycyrrhetinsäure-methylesters. Die Formel der dreibasischen Glycyrrhizinsäure läßt sich daher einstweilen auflösen in:



Warum bei der Alkohololyse die Bindung zwischen Aglykon und der näherstehenden Hexuronsäure gelöst wird und die Disaccharidbindung so weitgehend erhalten bleibt, läßt sich zunächst nur vermuten. Da bei einer Einwirkung wäßriger Säure auf den Methyl-hexuronsäure-dimethylester z. B. bei der Herstellung eines Brucinsalzes der Methyl-dihexuronsäure die Disaccharidbindung ebenfalls erhalten bleibt, nehmen wir an, daß die Disaccharidbindung β -Konfiguration besitzt⁴⁾. Es kann aber wegen des nicht zu vernachlässigenden Einflusses des Aglykons nicht ohne weiteres angenommen werden, daß die glykosidische Bindung zum Aglykon α -konfiguriert wäre.

Während der Alkohololyse ist aber auch die Disaccharidbindung zu etwa $\frac{2}{3}$ gelöst worden, denn aus dem nach Abtrennen des Methyl-dihexuronsäure-dimethylesters hinterbliebenen Sirup ließen sich kristalline Produkte trotz vieler Mühe nicht mehr direkt gewinnen. Aus Gründen, die weiter unten erwähnt werden, liegt hier die Hexuronsäure in Form monomerer Derivate vor, also von Methyl-hexuronsäure-methylestern (Formel I). Berücksichtigt man die Beobachtungen von W. Voß u. Mitarbb.⁴⁾ über das Auftreten einer Waldenschen Umkehrung bei der Alkohololyse der glykosidischen Bindung, so müßten bei Vorhandensein verschiedener Konfigurationen in den beiden ursprünglichen glykosidischen Bindungen der Glycyrrhizinsäure gleiche Teile von α - und β -Methyl-hexuronsäure-methylester entstehen. Nach den präparativen Erfahrungen bei der Gewinnung von Alkyl-glykosiden wäre eine Krystallisation einer oder beider Komponenten des Gemisches kaum zu erwarten.

³⁾ Die aus diesem Anlaß durchgeführten Bestimmungen haben zur Ausarbeitung eines neuen Halbmikro-Verfahrens für die Bestimmung von Hexuronsäuren geführt, über das demnächst berichtet werden wird.

⁴⁾ s. dazu W. Voss, W. Wachs u. H. Heisig: Über die Alkohololyse der glykosidischen Bindung. A. **522**, 240, 261 [1936].

Dieses sirupöse Gemisch wurde daher zur Verseifung des Esteranteils und zur Abspaltung des glykosidischen Methoxyls mit wäßriger Säure behandelt und von der so gewonnenen Hexuronsäure das Bariumsalz und das Brucinsalz hergestellt.

Das Bariumsalz besitzt die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -5.2^{\circ}$, die der von F. Bergmann⁵⁾ für ein hexuronsaures Barium gefundenen ($[\alpha]_D^{20} = -6.5^{\circ}$) recht nahekommt. F. Bergmann hat dieses Salz leider ohne Angabe der Ausbeute aus dem Hydrolysat der Glycyrrhizinsäure mit wäßriger Schwefelsäure erhalten und schon geschlossen, daß die in der Glycyrrhizinsäure enthaltene Hexuronsäure nicht mit *d*-Glucuronsäure identisch ist, da das Bariumsalz der *d*-Glucuronsäure nach F. Ehrlich und K. Rehorst die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +17.5^{\circ}$ besitzt. Da das *d*-mannuronsaure Barium nach links dreht⁶⁾, hat F. Bergmann diese Hexuronsäure als Baustein des Glycyrrhizins in Erwägung gezogen. Tatsächlich besitzt nun auch das von uns auf dem Wege über das Bariumsalz hergestellte Brucinsalz den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = -26.9^{\circ}$, der in der Nähe des von W. L. Nelson und W. H. Cretcher⁷⁾ für dieses Salz angegebenen Wertes $[\alpha]_D^{20} = -23.1^{\circ}$ liegt. Allerdings besteht aber ein Unterschied in den Schmelzpunkten; die amerikanischen Autoren geben als Schmelzpt. 147° an, während das von uns hergestellte Brucinsalz bei 180° schmilzt. Wir können daher noch keine Entscheidung treffen; die sichere Beantwortung der Frage, welche von den 16 theoretisch möglichen Aldo-hexuronsäuren in der von uns isolierten Dihexuronsäure enthalten ist, erfordert weitere Versuche.

Beschreibung der Versuche.

Spaltung von Glycyrrhizinsäure mit Methanol-Salzsäure.

50 g Glycyrrhizinsäure wurden in 500 ccm 3-proz. methanol. Salzsäure gelöst und die Lösung bei 40° stehen gelassen. Nach 100 Stdn. war der Gefäßinhalt zu einem dicken Krystallbrei erstarrt.

α -Glycyrrhetinsäure-methylester: Der abgeschiedene Glycyrrhetinester wurde abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet (17.0 g). Die Methanol-Lösung wurde nach Vereinigung mit dem Waschkohle mit frisch gefälltem Silbercarbonat entsäuert und das Filtrat nach Konzentration im Vak. auf 150 ccm in die 8-fache Menge Wasser gegossen. Dabei schied sich der noch im Methanol gelöst gebliebene Glycyrrhetinmethylester amorph aus. Nach dem Trocknen: 1.2 g; insgesamt erhalten 2.9 g Methylester (Ber. 29.4 g). Zweimalige Krystallisation aus siedendem Methanol, das erste Mal unter Verwendung von wenig A-Kohle. Der Schmp. 228° war schon nach der ersten Krystallisation erreicht.

$[\alpha]_D^{20} = +139.2^{\circ}$ ($\alpha = +1.93^{\circ}$, 2 dm, $c = 0.693$) in Methanol.

Methyl-dihexuronsäure-dimethylester: Die nach Abtrennung des amorphen Glycyrrhetinesters erhaltene wäßr. Lösung wurde im Vak. eingedampft und zur Entfernung des Wassers mehrmals mit Methanol abgedampft. Als gewichtskonstanter Rückstand wurden 20.8 g eines hellen, zähen Sirups erhalten. Dieser Sirup wurde in 200 ccm 3-proz. methanolischer Salzsäure gelöst und die Lösung 3 Tage bei 40° stehen gelassen. Danach

⁵⁾ Biochem. Ztschr. **267**, 304 [1933].

⁶⁾ C. Niemann u. K. P. Link, Journ. biol. Chem. **100**, 410 [1933].

⁷⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **54**, 3409 [1932].

wurde mit Silbercarbonat entsäuert, mit wenig A-Kohle geklärt und das Filtrat im Vak. zum dünnen Sirup eingedampft. Zum Sirup tropfte man solange absol. Äther zu, bis sich eine entstandene Fällung noch eben löste. Nach mehrtägigem Aufbewahren über Chlorcalcium war die Lösung eingedunstet und z. Tl. krystallin erstarrt. Nach dem Anreiben mit Methanol wurde abgesaugt und mit Methanol und Äther gewaschen. Erhalten: 6.5 g Methyl-dihexuron-dimethylester in feinen Nadelchen, die gegen 220° schmolzen. Nach 2-maliger Krystallisation aus Methanol war der Schmp. 223°. Löslich in Methanol, Äthanol und Wasser, schwer löslich in Aceton, unlöslich in Äther. Reaktion mit Fehlingscher Lösung erst nach Erwärmen mit wäbr. Säure.

Zur Analyse wurde im Vak. bei 78° getrocknet.

$[\alpha]_D^{20}$: +26.5° ($\alpha = +0.97^\circ$, 1 dm, $c = 1.830$) in Wasser.

Mutarotation wurde nicht beobachtet.

30.14 mg Sbst.: 48.56 mg CO₂, 16.4 mg H₂O. — 0.1107 g Sbst.: 0.1886 g AgJ. — 1.176 g in 20 ccm Wasser: $\Delta = 0.282^\circ$.

C₁₈H₂₄O₁₃ (412.187). Ber. C 43.67, H 5.87, OCH₃ 22.58.

Gef. „ 43.95, „ 6.09, „ 22.51.

Mol.-Gew. 387, Mol.-Gew. aus Methoxylgehalt: 413.4.

Nach 12-stdg. Stehenlassen mit überschüss. n₁₀-Natronlauge hatten 1 g des Lösters 50.9 ccm Lauge verbraucht, berechnet 48.6 ccm.

Salze der monomeren Hexuronsäure.

Bariumsalz: Aus der Mutterlauge des Methyl-dihexuronsäure-dimethylesters waren krystalline Anteile nicht mehr zu gewinnen. Nach dem Abdampfen im Vak. bis zur Gewichtskonstanz blieb ein zäher, hellgelber Sirup. Er wurde mit 250 ccm 2-proz. wäbr. Schwefelsäure 40 Stdn. bei 80° hydrolysiert, wobei sich die Lösung dunkel färbte. Die Schwefelsäure wurde mit Barytwasser abgestumpft, Bariumcarbonat dazugegeben und in der Wärme filtriert. Nach dem Klären mit wenig A-Kohle wurde die Lösung im Vak. auf etwa 100 ccm konzentriert und in den gleichen Raumteil Alkohol eingetroppt. Das ausgefallene schwach gelbliche Bariumsalz wurde abgetrennt und mit Alkohol gewaschen. Nach dem Trocknen: 16.0 g. Zur Reinigung wurde in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt. Das rein weiße Salz zeigte folgende Konstanten:

0.1246 g Sbst.: 0.0546 g BaSO₄.

C₁₂H₁₈O₁₄Ba (523.5). Ber. Ba 26.24. Gef. Ba 25.79.

$[\alpha]_D^{20}$: —5.2° ($\alpha = -0.14^\circ$, 1 dm, $c = 2.730$).

Brucinsalz: 9.0 g des Bariumsalzes wurden in Wasser gelöst, bei Zimmertemperatur genau mit der äquivalenten Menge n₂-Schwefelsäure umgesetzt und das Filtrat im Vak. bei 30° zum dünnen Sirup eingengt. Nach Versetzen mit Äthylalkohol, Abfiltrieren der ausgeschiedenen Flocken wurde erneut im Vak. eingedampft; der mit Alkohol angeriebene Sirup erstarrte im Exsiccator über Calciumchlorid allmählich glasig ohne zu krystallisieren. Erhalten 6 g. Saure Reaktion auf Kongo, Fehling-Lösung wird reduziert.

Zur Lösung von 1 g des Sirups in 30 ccm Wasser wurden 2 g Brucin gegeben und 1/2 Stde. auf dem Wasserbade erwärmt. Nach einigem Stehenlassen wurde das überschüss. Brucin abfiltriert und zu der auf 15 ccm eingengten Lösung bis zur beginnenden Trübung etwa das doppelte Volumen Aceton gegeben. Das nach einigem Stdn. in flachen Tafeln abgeschiedene

Brucinsalz wurde mit Aceton-Wasser-Gemisch gewaschen und aus Aceton-Wasser unkrystallisiert. Erhalten: 1.2 g rein weißes Salz. Beim Erhitzen bräunt sich die Substanz bis 170° und schmilzt unt. Zers. bei 182°.

Im Vak. über Phosphorpentoxyd bei 78° verloren 0.3777 g Sbst. 0.0264 g Wasser.
 $C_{29}H_{36}O_{11}N_2 + 2\frac{1}{2}H_2O$ (633.34). Ber. H_2O 7.11, gef. 6.99.

31.31 mg Sbst.: 67.48 mg CO_2 , 16.6 mg H_2O . — 10.844, 10.740 mg Sbst.: 0.450 ccm N_2 (22°, 752 mm), 0.455 ccm N_2 (20°, 743 mm). — 31.65 mg Sbst.: 6.26 ccm n'_{10} - $Na_2S_2O_3$ (Vieböck).

$C_{29}H_{36}O_{11}N_2$ (588.3). Ber. C 59.15, H 6.17, N 4.76, OCH_3 10.55.
 Gef. „ 58.79, „ 5.93, „ 4.75, 4.83, „ 10.22.

$[\alpha]_D^{20}$: —26.9°, ($\alpha = -1.35^\circ$, 2 dm, $c = 2.504$) in Wasser.

Brucinsalz der Methyl-dihexuronsäure.

a) Spaltung des Methyl-dihexuronsäure-dimethylesters mit Barythydrat: Eine Lösung von 1.5 g Methyl-dihexuron-dimethylester in 150 ccm kalt gesättigtem Barytwasser wurde 20 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, danach mit Kohlensäure gesättigt und vom Bariumcarbonat abfiltriert. Das Filtrat wurde mit $n/2$ -Schwefelsäure unter sorgfältigster Vermeidung eines Säureüberschusses versetzt und das Filtrat vom Bariumsulfat im Vak. bei 30° auf 20 ccm eingengt, mit 80 ccm Alkohol versetzt, mit A-Kohle geklärt und unter mehrfachem Alkohol-Zusatz im Vak. eingedampft. Der erhaltene dünne Sirup, der gegen Kongo schwach sauer reagierte, erstarrte im Exsiccator über Chlorcalcium zu einem festen Glase (0.5 g). Die Masse wurde in 15 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von 1.3 g Brucin ein Brucinsalz, wie oben beschrieben, hergestellt. 1.3 g flache Tafeln aus Aceton (Wasser 1:1). Beim Erhitzen bei 200° Gelbfärbung und bei 206° Schmelzen unt. Zers.

Im Vak. über Phosphorpentoxyd bei 78° verloren 0.4818 g 0.0348 g H_2O .

$C_{59}H_{72}O_{21}N_4 + 5H_2O$ (1262.67). Ber. H_2O 7.13, gef. 7.22.

30.22 mg Sbst.: 65.79 mg CC_2 , 16.5 mg H_2O . — 9.470 mg Sbst.: 0.390 ccm N (22°, 754 mm). — 32.15 mg Sbst.: 8.48 ccm n'_{10} - $Na_2S_2O_3$.

$C_{59}H_{72}O_{21}N_4$ (1172.6). Ber. C 60.38, H 6.19, N 4.78, OCH_3 13.23.

Gef. „ 59.39, „ 6.11, „ 4.73, „ 13.66.

$[\alpha]_D^{20}$: —15.0° ($\alpha = -0.57^\circ$, 2 dm, $c = 1.233$) in Wasser.

b) Spaltung des Methyl-dihexuronsäure-dimethylesters mit Schwefelsäure: 1 g des Esters in 50 ccm 2-proz. Schwefelsäure wurde 24 Stdn. bei 80° gehalten. Danach wurde die Schwefelsäure mit Barythydrat völlig entfernt und die Lösung im Vak. konzentriert. Nach Zugabe von Brucin wurde das Salz in der oben beschriebenen Weise nach 2-maliger Krystallisation aus Aceton-Wasser rein erhalten. Schmp. 205° (unt. Zers.) nach Trocknen im Vak. bei 78°.

$[\alpha]_D^{20}$: —15.2° ($\alpha = -0.45^\circ$, 2 dm, $c = 1.487$) in Wasser.