

10. Zucker. Rohrzucker und Invertzucker gewichtsanalytisch vor und nach der Inversion.

11. Künstliche Aromastoffe.

12. Polarisation vor der Inversion. Klärung wie bei der Inversionspolarisation.

13. Polarisation nach dem Vergären. 25,0 g Sirup werden mit etwa 200 ccm Wasser verdünnt und mit frischer Bierhefe bei Zimmertemperatur vergoren. Wenn keine Kohlensäureentwicklung mehr stattfindet, füllt man das Gemisch auf 250 ccm auf und dampft 200 ccm vom Filtrat auf etwa 100 ccm ein, die nach dem Klären mit Bleiessig polarisiert werden.

14. Gesundheitsschädliche Metalle. Vorprüfung auf Zink wie beim Himbeersafte.

Arbeiten aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bern.

Ueber das Glycyrrhizin

Von A. Tschirch und H. Cederberg.

(Eingegangen den 15. II. 1907.)

Die Versuche den Süßstoff des Süßholzes zu isolieren reichen weit zurück, bis auf Pfaff¹⁾, der ihn Glycion nannte, Döbereiner²⁾, und Robiquet³⁾, der den Namen Glycyrrhizin dafür einführte. Später beschäftigten sich Berzelius⁴⁾, Martin⁵⁾, Hirsch⁶⁾, Rump⁷⁾, Flückiger und Möller⁸⁾, Sestini⁹⁾ und andere damit, ohne jedoch zu reinen Körpern zu gelangen. Der erste, welcher eine Analyse der Substanz ausführte, war A. Vogel jun.¹⁰⁾. Sein Glycyrrhizin bildete eine hellgelbe amorphe Masse, die bei der Analyse ergab:

$$C = 61,65$$

$$H = 7,66.$$

Er gab ihm die Formel $C_{16}H_{26}O_6$.

1) System der Mat. med.

2) Elemente d. pharmaz. Chem.

3) Trommsd. Journ. XIX, Ann. de Chimie 72 (1809).

4) Ann. d. Phys. u. Chem. 10, 1827. Auch Lehrb. d. Chemie 1838.

5) Jahresb. d. Chem. 1860.

6) Ebenda 1860 u. 1871.

7) N. Rep. d. Pharm. 4.

8) Pharmakognosie.

9) Gaz. chim. ital. 1878, 131. Ber. d. ch. Ges. 1878, 1249.

10) Journ. f. pract. Chem. 28, 1.

T. Lade¹⁾ fand ähnliche Zahlen

$$\begin{array}{r} \text{C} = 61,26 \quad 60,61 \\ \text{H} = 7,31 \quad 7,09 \end{array}$$

wählte aber die Formel $\text{C}_{86}\text{H}_{48}\text{O}_{14}$. Den von ihm beobachteten Stickstoff (0,03—0,06%) bezieht er auf eine Verunreinigung.

Gorup-Besanez²⁾ rechnet das Glycyrrhizin zu den Glykosiden. Auch seine Substanz war amorph, lieferte übrigens wieder ähnliche Verbrennungszahlen

$$\begin{array}{r} \text{C} = 61,46 \\ \text{H} = 7,73. \end{array}$$

Daraus leitet er eine dritte Formel ab: $\text{C}_{48}\text{H}_{72}\text{O}_{18}$, die er durch das Calciumsalz zu stützen suchte. Die Hydrolyse ergab ein Harz und einen gärungsfähigen Zucker.

Roussin³⁾ erhielt 0,14% Stickstoff. Er betrachtet den in der Droge vorkommenden Körper als das Ammoniumsalz der Glycyrrhizinsäure⁴⁾, da er bei der Behandlung sowohl der Droge wie der Auszüge mit Alkalihydraten das Auftreten von Ammoniak beobachtete. Die Glykosidnatur des Glycyrrhizins wird bestritten.

J. Habermann⁵⁾ verdanken wir die ausführlichsten Mitteilungen über das Glycyrrhizin und die ersten zuverlässigen Analysen. Er ging von dem braunschwarzen „Glycyrrhizinum ammoniacale“ des Handels aus und erhielt daraus schwach gelblich gefärbte Krystalle, denen er die Formel $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_9$ resp. $\text{C}_{44}\text{H}_{66}\text{N}_2\text{O}_{18}$ gibt. Er betrachtet die im Glycyrrh. ammoniacale enthaltene Substanz als das saure Ammoniumsalz einer stickstoffhaltigen Säure und gibt dem Salze die Formel $\text{C}_{44}\text{H}_{62}\text{NO}_{18}(\text{NH}_4)$.

Gefunden:				Berechnet:
C = 57,71	57,79	58,35	58,42	57,98
H = 7,45	7,41	8,17	7,88	7,31
N = 3,09	3,11	—	—	3,07.

Die daraus dargestellte freie Säure war amorph und reduzierte Fehling'sche Lösung. Die neutralen Kali- und Ammoniumsalze entsprachen dem Formeltyp: $\text{C}_{44}\text{H}_{60}\text{NO}_{18}(\text{R})_n$. Das saure Kaliumsalz wurde in farblosen Krystallen erhalten. Bei der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure erhielt Habermann dieselbe harzige Substanz

1) Ann. d. Chem. 59, 224.

2) Ann. d. Chem. 118, 236 (1861).

3) Journ. d. pharm. et chim. 22 (1875), 6. Arch. d. Pharm. (3), 8, 156.

4) Die gleiche Ansicht hatte Flückiger schon 1867 ausgesprochen (Pharmak. 1. Aufl.).

5) Annal. d. Chem. 197 (1879), 105, auch Sitzungsab. d. Wien. Akad. 74 (Juli 1878). Sitzungsab. d. Wien. Akad. 80, 731 (Ber. d. d. chem. Ges. 1880, 1362).

wie Gorup-Besanez. Er nannte sie Glycyretin und gab ihr die Formel $C_{32}H_{48}NO_4$. Sie lieferte ein Diacetat. Zucker trat bei der Hydrolyse nicht auf, sondern eine Säure, die er Parazuckersäure nannte.

Die ersten, welche aus dem Süßholz selbst und auch aus Succus Liquiritiae farblose Krystalle von Glycyrrhizinsäure und deren Salzen erhielten, waren Tschirch und Relander¹⁾, die sich zur Darstellung der Methoden von Roussin und Habermann bedienten, aber bei der Analyse der Krystalle so widersprechende Resultate erhielten, daß sie die analytischen Daten nicht veröffentlichten. Sie fällten das Rohglycyrrhizin aus dem wässrigen Auszuge der Droge mittelst Schwefelsäure, lösten die Fällung in Alkohol, versetzten die Lösung mit Aether — es entsteht ein harziger Niederschlag — filtrierten und dampften das Filtrat zur Sirupkonsistenz ein. Die dickflüssige Masse wurde an den Wänden von Porzellanschalen ausgebreitet und getrocknet. Diese Substanz, die mit Wasser eine geleeartige Masse bildet, wurde in Alkohol gelöst und in die Lösung Ammoniakgas eingeleitet. Es entsteht hierbei ein Niederschlag. Dieser wird samt der Flüssigkeit zur Trockne gebracht und der Rückstand aus kochendem Eisessig krystallisiert. Beim Erkalten scheiden sich Krystalle von glycyrrhizinsäurem Ammon ab, die, wiederholt aus Alkohol umkrystallisiert, als farblose Krystallschuppen erhalten wurden. Das Ammonsalz ließ sich leicht in das Kalisalz, und dies in die freie Säure überführen, die alle beide durch Umkrystallisieren aus Eisessig in schönen farblosen Krystallen erhalten werden konnten. Alle diese Substanzen enthielten Stickstoff und gaben die Pyrrolreaktion, sodaß auch Tschirch und Relander an der Auffassung festhielten, daß die Glycyrrhizinsäure eine stickstoffhaltige Säure sei, und der eine von ihnen (T.) gelegentlich einer Erörterung über „hedyophore Gruppen“ im Molekül der Süßstoffe²⁾ die Hypothese aufstellte, daß das Glycyrrhizin wohl zu der Gruppe der Süßstoffe gehöre, in der sich auch Dulcin, Saccharin und Glucin befinden und vielleicht zum Succinimid in Beziehung stehe.

Bei der Hydrolyse des krystallinischen glycyrrhizinsäuren Ammons wurde einerseits Glycyretin als krystallinisches Pulver, andererseits neben gärungsfähigem Zucker eine Säure erhalten, deren Baryumsalz 15,62% Ba enthielt. Auch das Glycyrrhetin enthielt Stickstoff. Es ließ sich acetylieren.

Außerdem untersuchten Tschirch und Relander noch das Filtrat von der oben erwähnten Schwefelsäurefällung des Auszuges der

¹⁾ A. Tschirch, Kleine Betr. z. Pharmakobotanik und Pharmakochemie; VI. Zur Kenntnis d. Süßholzwurzel. Schw. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1898, S. 189.

²⁾ Schweiz. Wchschr. f. Chem. u. Pharm. 1898, S. 243.

Droge und fanden darin neben Glukose¹⁾ bemerkenswerte Mengen von Mannit.

Gefunden:		Berechnet für $C_6H_{14}O_6$:
C =	39,46 39,70	39,56
H =	8,10 8,09	7,69.

Das Asparagin wurde bekanntlich zuerst von Caventou im Süßholz aufgefunden. Er nannte es Agedoil. Es wurde dann von Henry und Plisson (1828) mit dem von Vauquelin und Robiquet (1809) im Spargel aufgefundenen Asparagin identifiziert. Sestini erhielt aus dem Süßholz 2—4 % davon.

Außer diesen Substanzen werden noch im Süßholz angegeben: 0,8 % Fett und Harz (Glycyrrhizinharz), Farbstoff, Gerbstoff, Glycyrrhizinbitter und ein ätherisches Oel²⁾.

Die nachstehend mitgeteilte Untersuchung wurde unternommen, um die Formel des Glycyrrhizins festzustellen und seine Spaltung aufzuklären. Auch sollte ermittelt werden, in welcher Form sich der Körper in der Pflanze findet.

Geschnittenes russisches Süßholz wurde im Perkolator perkoliert, die Perkolate zur Entfernung des Eiweißes aufgekocht und filtriert. Das Filtrat wurde auf ein Drittel eingedampft und nach dem Erkalten vorsichtig nur solange mit Schwefelsäure versetzt, als noch eine flockige Fällung entstand, denn das ausfallende Rohglycyrrhizin, das 6—7 % der Droge ausmacht, ist etwas in verdünnter Schwefelsäure löslich. Der Niederschlag, der eine pflasterartige, in seidenglänzende Fäden ausziehbare Masse bildet, wurde nun durch Kneten mit Wasser solange gewaschen, bis alle Schwefelsäure entfernt und der Seidenglanz verloren gegangen war. Die Masse wurde nun durch Pressen vom Wasser befreit, in der dreifachen Gewichtsmenge Alkohol gelöst, filtriert und nun noch das doppelte Volumen Alkohol hinzugesetzt. Es entstand reichliche Fällung einer braungrauen stickstoffhaltigen gummiartigen Substanz, deren Menge sich auf weiteren Zusatz nicht vermehrte. Das Filtrat wurde zur Trockne gebracht, der Rückstand wieder in Alkohol gelöst und diese Lösung mit Aether versetzt. Es entstand abermals eine diesmal aber nur geringe Fällung, die sich als dunkle Masse am Boden des Kolbens absetzte und außerordentlich bitter und dabei kratzend schmeckte. Wurde nun das Filtrat zur staubigen Trockne eingedampft, so erhielt man nach dem Zerreiben ein gelbes, stark süßes Pulver, die gereinigte Glycyrrhizinsäure. Dieselbe löst

¹⁾ Auch Flückiger fand einen Zucker im Süßholz.

²⁾ Haensel, Ber. 1899. Er erhielt 0,03 % aus spanischer, 0,035 % aus russischer Droge.

sich verhältnismäßig leicht in verdünntem Alkohol, Methylalkohol, Eisessig, wasserhaltigem Aceton, schwieriger in absolutem Alkohol, nicht in Aether und Chloroform. In heißem Wasser ist sie leicht löslich, doch geseht die Flüssigkeit nach dem Erkalten zu einer Gallerte.

Extrahiert man die Substanz im Soxhlet mit Aether, so geht eine geringe Menge einer farb- und geschmacklosen Substanz in Lösung, die als Glycyrrhetinsäure (s. weiter unten) identifiziert wurde.

Glycyrrhizinsäure.

Krystallisiert konnte die Glycyrrhizinsäure aus keinen der obigen Flüssigkeiten erhalten werden. Nochmaliges Lösen und Behandeln mit Aether nutzte auch nichts, ebensowenig wie Kochen mit Tierkohle.

Die Substanz enthielt Stickstoff, der sich zwar nicht nach der Lassaigne'schen Methode, auch nicht nach der Kehler'schen Modifikation derselben, wohl aber beim Erhitzen mit Kali durch die Pyrrrolreaktion nachweisen ließ¹⁾.

Die weitere Reinigung wurde nun über das primäre Kalisalz vorgenommen. Der konzentrierten alkoholischen Lösung wurde solange alkoholisches Kali zugesetzt, bis die gelbbraune Farbe in Orange gelb umschlug, d. h. bis das Kali etwas vorwaltete. Es schied sich eine graugelbe, körnige Masse — das tertiäre Kaliumsalz — ab, die mit Alkohol gewaschen und dann etwa im doppelten Gewichte Eisessig heiß gelöst wurde. Beim Erkalten schieden sich schöne Krystalle in reichlicher Menge ab, die abgesaugt und mit Essigsäure gewaschen wurden. Sie zeigten nur noch schwache Stickstoffreaktion. Sie wurden noch mehrmals aus Eisessig umkrystallisiert, die Krystalle mit Alkohol gewaschen, und endlich mit wenig Wasser versetzter Alkohol als Krystallisationsmittel benutzt. Nach drei Umkrystallisationen aus diesem Lösungsmittel waren die Krystalle ganz farblos und gaben keine Stickstoffreaktion mehr.

Das Kalisalz schmeckt intensiv süß. Noch die Lösung 1:20000 ist deutlich süß. Es löst sich in heißem Wasser, die Lösung geseht beim Erkalten zu einer Gallerte. Die Lösung färbt sich bei Zusatz von Alkali gelb. Die Kalibestimmungen ergaben:

0,2912 Substanz gaben 0,0285 K_2SO_4 = 4,395% K.

0,2856 " " 0,0276 " = 4,368 " "

Das entspricht im Mittel einem Kaligehalte von 4,37% K.

$C_{44}H_{68}KO_{10}$ verlangt 4,18% K.

Es liegt also das primäre Kalisalz vor (s. weiter hinten).

¹⁾ Vergl. Tschirch und Stevens, Ueber Gummlenzyme (Gummasen), speziell den Nachweis des Stickstoffes in ihnen. Pharm. Centralh 1905, S. 501.

Aus diesem primären Kalisalz wurde nun die Glycyrrhizinsäure in der Weise dargestellt, daß wir das Salz in sehr verdünntem Alkohol lösten, solange Bleiessig hinzusetzten als noch eine Fällung entstand und den schweren weißen Niederschlag nach dem Abfiltrieren, in sehr verdünntem Alkohol suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegten. Der Schwefelwasserstoff verhindert das Gelatinieren der Lösung und das Schwefelblei scheidet sich daher leicht ab. Wird nun das Filtrat zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus Eisessig krystallisiert, so erhält man die Glycyrrhizinsäure in farblosen Schuppen. Krystallisiert man diese aus Alkohol um, so erhält man Prismen. Werden die Krystalle, nachdem sie mit Alkohol gewaschen wurden, zuerst bei 60—70°, dann über Natronkalk und Schwefelsäure getrocknet, so schmelzen sie bei 205°, nachdem schon bei 170° Bräunung und Sintern eingetreten ist. Sie schmecken sehr süß und lösen sich etwa in den gleichen Lösungsmitteln wie das oben beschriebene Kalisalz.

Da das Kalisalz keinen Stickstoff enthielt, war ja vorauszusehen, daß auch die freie Glycyrrhizinsäure keinen Stickstoff enthalten werde. Der Versuch bestätigte die Voraussage. Da aber die Säure bisher stets als eine stickstoffhaltige Substanz betrachtet wurde (s. oben), haben wir auch noch einen weiteren Versuch in der Weise ausgeführt, daß wir die Substanz im Verbrennungsrohre wie üblich im Sauerstoffstrome mit Kupferoxyd aber ohne vorgelegte Cu-Spirale verbrannten und die Verbrennungsprodukte in Kalilauge auffingen. Die letztere gab weder mit Diphenylamin noch mit Brucin eine Reaktion.

Die Glycyrrhizinsäure ist also stickstofffrei. Alle früher erhaltenen Proben des Körpers waren unrein. Erst oftmals wiederholtes Umkrystallisieren entfernt den stickstoffhaltigen Körper ganz. Das erklärt nun auch, warum die Analysen von Tschirch und Relander unter einander nicht stimmen konnten, obwohl nur gut krystallisierte Körper analysiert wurden: es gelangten eben Substanzen von verschiedener Reinheit zur Verbrennung.

Damit erweisen sich nun auch alle auf den Stickstoffgehalt der Glycyrrhizinsäure aufgebauten Hypothesen als hinfällig. Das „Hedyophor“ kann hier nicht eine N-haltige Atomgruppe sein.

Die Glycyrrhizinsäure ergab folgende Verbrennungszahlen:

0,2108	Substanz	ergaben	0,4537	CO ₂	und	0,1416	H ₂ O.
0,2036	„	„	0,4350	„	„	0,1302	„
0,1543	„	„	0,3324	„	„	0,1002	„
	Gefunden:		Mittel:			Berechnet für C₄₄H₆₄O₁₉:	
C =	58,69	58,26	58,75	58,56		58,83	
H =	7,56	7,15	7,21	7,26		7,28.	

Daß die Formel $C_{44}H_{64}O_{19}$ richtig ist, ergibt sich aus der Titration und der Hydrolyse.

Die Glycyrrhizinsäure läßt sich nämlich glatt titrieren, sowohl mit Phenolphthalein wie mit Lackmus als Indikator, und es zeigt sich, daß es eine dreibasische Säure ist, daß sie drei Karboxyle enthält.

0,5 Substanz verbrauchte im Mittel 16,8 ccm $\frac{n}{10}$ Kalilauge. $C_{44}H_{64}K_3O_{19}$ verlangt 16,7 ccm.

Dies entspräche einem Molekulargewicht von 892,85 für die Säure. Das Molekulargewicht ist nach der Formel $C_{44}H_{64}O_{19} = 896,6$.

Die sauren Salze der Glycyrrhizinsäure, die immer entstehen, wenn man, wie oben angegeben, aus saurer Lösung krystallisiert, reagieren sauer. Sie enthalten 1 Atom der einwertigen Metalle, sind also primäre Salze.

Man kann das saure Natriumsalz titrieren.

0,5 Substanz verbrauchte im Mittel 10,9 ccm $\frac{n}{10}$ Kalilauge. $C_{44}H_{63}KO_{19}$ verlangt 10,7 ccm. Dies entspräche einem Molekulargewicht von 917,4 für das Salz. Das Molekulargewicht ist nach der Formel $C_{44}H_{63}KO_{19} = 934,7$.

Während wir die primären Salze leicht schön krystallisiert erhalten konnten, war dies bei den tertiären nicht möglich. Sie fallen als ein weißes Pulver aus, wenn man die Glycyrrhizinsäure in alkoholischer Lösung mit Alkalhydraten übersättigt (s. oben).

Die Lösungen der Alkalisalze der Glycyrrhizinsäure werden durch normales und basisches Bleiacetat gefällt.

Die Glycyrrhizinsäure ist optisch inaktiv. Sie reduziert weder ammoniakalische Silberlösung noch Fehling'sche Lösung. Sie schmeckt rein aber charakteristisch süß, nicht kratzend.

Aus der reinen Glycyrrhizinsäure wurde dann wieder das primäre Ammoniumsalz durch Einleiten von Ammoniakgas in die alkoholische Lösung und Krystallisieren der Abscheidung aus Eisessig dargestellt. Es bildet, so bereitet, aus farblosen Krystallblättchen bestehende Drusen, die sehr süß schmecken, jedoch nicht ganz so stark als das primäre Kalisalz. Seine Lösungsverhältnisse sind die gleichen wie die des Kalisalzes. Eine Stickstoff- bzw. Ammoniumbestimmung nach Kjeldahl ergab:

1,0 Substanz lieferte 0,0196 NH_4 (bei der Titration verbraucht: 10,9 ccm $\frac{n}{10}$ Säure).

1,0 des primären Ammoniumsalzes $C_{44}H_{63}(NH_4)O_{19}$ sollte liefern 0,0197 NH_4 (und bei der Titration verbrauchen: 10,94 ccm $\frac{n}{10}$ Säure).

Acetylierung der Glycyrrhizinsäure.

Die Säure wurde mit ihrem gleichen Gewichte entwässerten Natriumacetates und dem fünffachen Essigsäureanhydrid 5 Minuten gekocht, das Ganze in heißes Wasser gegossen, die Abscheidung in Eisessig gelöst und mit Wasser ausgefällt. Der gut gewaschene und getrocknete Niederschlag bildete ein weißes, beim Reiben elektrisch werdendes Pulver, das bei 210° schmolz. Die Acetylbestimmung wurde durch Titration vor und nach erfolgter Verseifung ausgeführt.

0,59 Substanz verbrauchten vor der Verseifung 31,0 ccm $\frac{n}{20}$ Lauge.

0,4948 Substanz verbrauchten nach der Verseifung 38,5 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge.

Hieraus ergaben sich die Molekulargewichte 1141,9 und 1156,7. — Mittel 1149,3.

Eine Hexaacetylverbindung: $C_{44}H_{58}O_{19}(CH_3CO)_6$ würde verbrauchen bei einem Molekulargewichte von 1148,6: 30,8 ccm $\frac{n}{20}$ bzw. 38,8 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge.

Die Glycyrrhizinsäure enthält also 6 Hydroxylgruppen. Es kommt ihr also, da sie 3 Karboxylgruppen enthält, die Formel $C_{41}H_{55}O_7(OH)_6(COOH)_3$ zu.

Kalischmelze.

Die (bei ca. 300° ausgeführte) Kalischmelze lieferte Essigsäure, Oxalsäure und eine eigentümlich riechende Säure, die in Aether sehr löslich war. Protokatechusäure oder p-Oxybenzoesäure konnten nicht nachgewiesen werden.

Hydrolyse.

Die Hydrolyse ergab nun weitere Aufschlüsse über die Zusammensetzung der Glycyrrhizinsäure. Sie zeigte, daß sie ein glykosidartiger Körper, aber kein echtes Glykosid ist, vorausgesetzt, daß man unter diesem Namen nur Zuckeräther oder Zuckerester versteht.

Zur Hydrolyse wurde das Kalisalz benutzt. Es wurde unter möglichstem Luftabschluß während 5 Stunden mit etwa 75 Teilen 3%iger Schwefelsäure gekocht. Dabei nahm die Flüssigkeit eine gelbe Farbe an, und es schied sich ein weißer, spröder Körper ab, die Glycyrrhetinsäure.

Glycyrrhetinsäure.

Die bei der Hydrolyse ausgeschiedene Masse wurde zerrieben, ausgewaschen, getrocknet und aus Eisessig krystallisiert. Die Substanz wurde so in kleinen farblosen Nadeln erhalten. Um sie von jeder Spur anhängender Essigsäure zu befreien, wurden die Nadeln

nach Absaugen der Mutterlauge in Alkohol gelöst und die Substanz mit Wasser ausgefällt. Nach dem Auswaschen und Trocknen zuerst im Trockenschrank, dann über Natronkalk und Schwefelsäure schmolz der Körper bei 210° . Die Glycyrrhetinsäure (das Glycyretin früherer Autoren) löst sich in Alkohol leicht, wenig in Aether. Es ist geschmacklos.

Die Analyse ergab:

0,1961	lieferten	0,5059	CO ₂	und	0,1609	H ₂ O.	
0,1694	"	0,4353	"	"	0,1404	"	
0,1696	"	0,4382	"	"	0,1375	"	
		Gefunden:			Mittel:		Berechnet für C ₈₃ H ₄₈ O ₇ :
C =	70,36	70,08	70,46		70,30		70,53
H =	9,12	9,21	8,99		9,11		8,99.

Das Molekulargewicht der Verbindung wurde zu 558,3 und 595,3 (Mittel 576,8) ermittelt, bei Anwendung der Siedepunktmethode mit Hilfe von Phenol. Die Titration ergab noch besser auf C₈₃H₄₈O₇ stimmende Werte:

0,545	verbrauchten	10,4	ccm (ber. 10,01)	n/10	Lauge = 524.
0,637	"	11,8	" (ber. 11,7)	"	" = 539,9.

Die Formel C₈₃H₄₈O₇ hat ein Molekulargewicht = 544,5.

Gleichzeitig zeigt die Titration, daß eine Monokarbonsäure vorliegt, also bei der Titration ein Salz der Formel C₈₃H₄₇KO₇ gebildet wird.

Gefunden:		Berechnet für C ₈₃ H ₄₇ KO ₇ :
10,71	10,40	10,314% KOH.

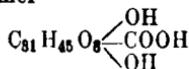
Da sie ausgesprochenen Säurecharakter besitzt, haben wir den früheren für die unreine Substanz benutzten Namen Glycyretin in Glycyrrhetinsäure umgebildet.

Die Acetylierung, wie oben bei der Glycyrrhizinsäure ausgeführt, lieferte ein Acetat, das als körniges weißes Pulver vom Schmp. 219° erhalten wurde. Die Zahl der eingetretenen Acetylgruppen wurde durch Titration vor und nach der Verseifung ermittelt.

0,5	Substanz verbr.	vor der Verseifung	24,4	ccm n/10	Lauge = 614,7.
1,19	"	nach "	57	"	" = 626,3.

C₈₃H₄₈O₇(CH₃CO)₂ würde 23,86 ccm resp. 56,81 ccm verlangen = 628,5.

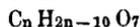
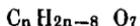
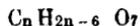
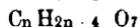
Es war also ein Diacetat gebildet worden, die Säure enthält also 2 Hydroxyle. Demnach kommt ihr, da sie außerdem ein Karboxyl enthält, die Formel



zu.

Die Oxydation mit Salpetersäure lieferte keine Pikrinsäure.

Möglicherweise liegt also eine aliphatische Oxysäure der Gruppe von Säuren mit 7 Sauerstoffatomen vor, von denen Vertreter der Reihen:



aber noch keiner des Formeltyps $C_n H_{2n-10} O_7$ bekannt ist. Einzelne Glieder der niederen Reihen dieser Säuren (Glykonsäure, Mannonsäure, Galaktonsäure, Mannitsäure, Isodulciticarbonsäure etc.) stehen zu Gliedern der Zuckerreihe bezw. dem Mannit und Dulcitol in Beziehung.

Der Grund, warum wir die Glycyrrhetinsäure, die bei der Kalischmelze keine aromatischen Produkte liefert, gerade diesen Substanzen vorläufig anreihen möchten, ist der, daß es uns gelungen ist, nachzuweisen, daß der Mannit nicht in der Droge vorgebildet ist, sondern sich erst im Verlaufe der Verarbeitung, wohl aus der Glycyrrhetinsäure, bildet. Wir erhielten ihn, ebenso wie Tschirch und Relander ohne Schwierigkeit aus den Filtraten von der mittelst Schwefelsäure erzeugten Rohglycyrrhizinsäurefällung dadurch, daß wir mit Baryumkarbonat die Schwefelsäure entfernten, das Filtrat zur Trockne eindampften und den Rückstand mit Alkohol extrahierten.

Arbeitet man aber in der Weise, daß man die Rohglycyrrhizinsäure nicht mit Schwefelsäure auställt, sondern das Glycyrrhizin selbst (s. weiter unten) aus dem wässerigen Auszuge der Droge direkt mit Alkohol niederschlägt, das Filtrat von der Fällung eindampft und den Rückstand mit Alkohol auszieht, so erhält man keinen Mannit.

Der zweite Spaltling der Glycyrrhizinsäure.

Nachdem die Glycyrrhetinsäure abgeschieden war, wurde das Filtrat mit Baryumkarbonat versetzt. Es fiel Baryumsulfat aus und die überstehende Flüssigkeit reduzierte Fehling'sche Lösung und Silberlösung und gab mit viel Alkohol eine Fällung, die sich als das Baryumsalz einer Säure erwies. Sie lieferte beim Eindampfen einen stark reduzierenden Rückstand.

Mit Phenylhydrazin entstand eine undeutlich krystallinische Verbindung. Versetzt man aber zur Ausfällung des Baryts die Flüssigkeit mit Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion, und dann erst mit Phenylhydrazin und Natriumacetat, und erwärmt, so erhält man eine in kleinen Drusen krystallisierende Verbindung, die, nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Wasser und Pyridin und Trocknen

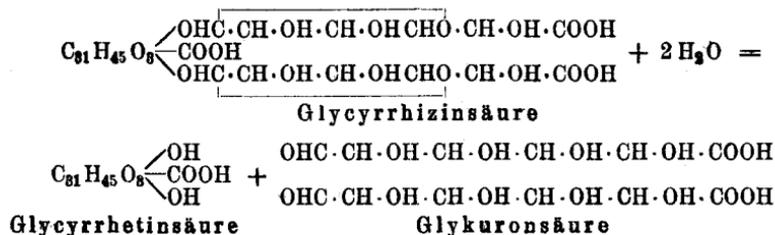
bei 110°, bei 215° schmilzt. Die Substanz verhält sich also wie ein Aldehyd und wie eine Säure.

Bemerkenswert erscheint auch, daß der Körper die beiden Pentosenreaktionen zeigt, nämlich mit Phloroglucin-Salzsäure: rot, mit Orcin-Salzsäure: blaugrün wird.

Die freie Säure bildet eingedampft einen farblosen Sirup, aus dem sich beim Stehen über Schwefelsäure kleine derbe Krystalle abscheiden.

Zieht man diese Reaktionen in Betracht und nimmt man die oben ermittelten Tatsachen hinzu: daß die Glycyrrhizinsäure 3 Karboxylgruppen und 6 Hydroxyle, daß das Glycyrrhetin 1 Karboxyl und 2 Hydroxyle enthält, so kommt man ganz ungezwungen zu der Vorstellung, daß der zweite Spaltling der Hydrolyse des Glycyrrhizins aus 2 Molekülen Glykuronsäure: $\text{HO}\cdot\text{C}\cdot\text{H}(\text{OH})\cdot\text{C}\cdot\text{H}(\text{OH})\cdot\text{C}\cdot\text{H}(\text{OH})\cdot\text{COOH}$ besteht. In dem zweiten Spaltungsprodukte müssen 2 Karboxyle und 4×2 Hydroxyle stecken. Es muß sich wie eine Säure verhalten und doch auf Phenylhydrazin reagieren und der Formel $2(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7)$ entsprechen. Diese Formel sowie die obigen Reaktionen stimmen in der Tat auf Glykuronsäure, die Fehling'sche Lösung reduziert, mit Baryt ein Salz bildet, das durch Alkohol gefällt wird, auf Phenylhydrazin reagiert wie ein Zucker, die Pentosenreaktionen gibt und einen farblosen Sirup bildet, aus dem sich beim Stehen über Schwefelsäure kleine derbe Krystalle von Glykuronsäureanhydrid abscheiden.

Dazu kommt, daß sich die Aufspaltung des Glycyrrhizins sehr zwanglos und in Uebereinstimmung mit den Tatsachen unter der Annahme, daß bei der Hydrolyse Glykuronsäure abgespalten wird, erklären läßt. Der Vorgang würde nämlich dann nach der Gleichung:



verlaufen, d. h. mit anderen Worten die Glycyrrhizinsäure wäre ein Di-Glykuronsäureäther der Glycyrrhetinsäure.

Diese Formel würde auch zwanglos die Tatsache erklären, daß die Glycyrrhizinsäure, obwohl sie drei Karboxylgruppen enthält, am leichtesten krystallisierte saure Salze bildet, bei denen nur ein Karboxyl,

offenbar das der Glycyrrhetinsäure, abgesättigt wird. Sie erklärt aber auch die Tatsache, daß die Glycyrrhizinsäure und ihre Salze Kupfer- und Silberlösung nicht reduzieren, die Reduktion aber bei dem Spaltling eintritt, die Aldehydgruppen sind eben bei der Paarung gebunden.

Berücksichtigen wir die beiden sichergestellten Formeln, einerseits die der Glycyrrhizinsäure und andererseits die der Glycyrrhetinsäure, so läßt sich jedenfalls soviel sagen, daß der zweite Spaltling der Formel $2(C_6H_{10}O_7)$ entsprechen muß. Er kann kein Zucker sein, sondern er muß in die Gruppe von Säuren gehören, die nach dem Formeltyp $C_nH_{2n-2}O_7$ gebaut sind. Von den Säuren, die diesem Typus folgen, sind bisher bekannt geworden:

Aetheräthylidenmilchsäure: $COOH \cdot C(OH \cdot CH_3)O \cdot C(OH \cdot CH_3)COOH$.
 Trioxyadipinsäure.

Hydruvinsäure: $O[(CH_2)C(OH)COOH]$. (?)

Glykuronsäure: $COOHCH(OH)CH(OH)CH(OH)CH(OH)COH$.

Oxyglykonsäure: $C_6H_{10}O_7 + 2H_2O$.

Saccharonsäure: $COOH(OH)C(CH_2)CH(OH)CH(OH)COOH$.

Von diesen kann nur die Glykuronsäure in Betracht kommen, denn da die Glycyrrhizinsäure 6 Hydroxyle und die Glycyrrhetinsäure 2 Hydroxyle enthält, müssen in dem anderen Spaltling, da 2 Moleküle Wasser aufgenommen werden, 2×4 also in jedem Molekül 4 Hydroxyle enthalten sein, die finden sich nun aber nur in der Glykuronsäure. Um p-Zuckersäure, wie Habermann meint, kann es sich jedenfalls nicht handeln. Der abgespaltenen Säure muß die Formel $HOC \cdot (CHOH)_4COOH$ zukommen. Möglich wäre es ja immerhin, daß es noch weitere Säuren der Gruppe gibt, die ebenfalls 4 Hydroxyle im Molekül haben und doch nicht Glykuronsäure sind. Die Glykuronsäure ist bisher nicht sehr oft untersucht worden¹⁾. Sie bildet einen sauer schmeckenden Sirup und ist schwer rein darzustellen. Immerhin sind doch einige sehr charakteristische Reaktionen von ihr bekannt. Da diese bei dem von uns isolierten Körper eintraten, würden wir kein Bedenken tragen, die Identität der von uns gefundenen Säure mit Glykuronsäure als sicher hinzustellen, wenn man schon in anderen Pflanzenprodukten diese Säure gefunden hätte. Bisher ist aber ausschließlich der Tierkörper als Glykuronsäure produzierend bekannt und die Glycyrrhizinsäure wäre das erste Pflanzenprodukt, in dem Glykuronsäure vorkommt. Da ist doch noch vielleicht

¹⁾ Vergl. besonders Thierfelder, Unters. über die Glykuronsäure, Zeitschr. f. physiolog. Chem. XI. u. XIII. dort die Literatur. Vergl. ferner Spiegel in Ber. d. d. chem. Ges. XV., 1964. Entdeckt wurde die Glykuronsäure von Schmiedeberg und Meyer (1879).

eine gewisse Reserve am Platze, so einleuchtend auch die ganze Spaltung durch die Annahme, daß sich Glykuronsäure abspaltet, wird.

Daß bei der Spaltung eine Substanz von Säurecharakter entsteht, haben ja bereits Tschirch und Relander und noch früher Habermann gefunden, der den Körper für Zuckersäure hielt. Um Zuckersäure $C_4H_4(OH)_4(COOH)_2$ kann es sich aber nicht handeln, da die Abspaltung dieser Säure, die nach dem Formeltyp $C_nH_{2n-2}O_8$ gebaut ist, nicht mit der Formel der Glycyrrhizinsäure (und der der Glycyrrhetinsäure) in Einklang zu bringen ist, die Zuckersäure übrigens auch Fehling'sche Lösung nicht reduziert.

In gewisser Beziehung ist also die Glycyrrhizinsäure in Parallele zu setzen mit der Euxanthinsäure, die bekanntlich der Glykuronsäureäther des Euxanthons ist. Aber auch dieser Körper entsteht erst im Tierkörper, da kein Zweifel darüber bestehen kann, daß das Jaune indien, aus dem man die Euxanthinsäure gewinnt, aus dem Harne von Kühen dargestellt wird, die mit Mangoblättern gefüttert wurden.

Glukose.

Bei den nahen Beziehungen, die die Glykuronsäure zur Glukose besitzt, ist es nun wohl auch möglich, daß (wie der Mannit zur Glycyrrhetinsäure) die Glukose, welche man im Süßholze ganz allgemein neben dem Glycyrrhizin antrifft, zur Glykuronsäure in genetischen Beziehungen steht.

Daß Glukose das Glycyrrhizin in der Droge begleitet, konnten auch wir wieder bestätigen. Wird z. B. der nach dem Herauslösen des Mannites aus dem Rückstande von der Glycyrrhizinsäurefällung verbleibende Rückstand in Wasser gelöst und mit Bleiessig gefällt, so erhält man ein farbloses Filtrat, das süß schmeckt, Fehling'sche Lösung reduziert und mit Phenylhydrazin ein bei 204° schmelzendes Osazon gibt. Der gleiche Körper wurde auch aus dem mit Bleiessig gefällten wässerigen Auszuge des Süßholzes erhalten.

Glycyrrhizin.

Um nun zu ermitteln, in welcher Form resp. Bindung sich die Glycyrrhizinsäure in der Droge findet, wurden Versuche gemacht, die Grundsubstanz, das Glycyrrhizin, zu isolieren.

Die jetzt herrschende Ansicht, daß die Glycyrrhizinsäure als Ammoniumsalz vorhanden sei, ist von vornherein sehr unwahrscheinlich, da Ammoniumsalze in Pflanzen sonst nicht vorkommen. Destilliert man den wässerigen Auszug der Droge mit Kali, so erhält man im Destillate allerdings etwas Ammoniak, aber dies hat offenbar eine

andere Quelle als das Glycyrrhizin, übrigens wird kein Ammoniak erhalten, wenn man den Auszug der Droge mit gebrannter Magnesia destilliert.

Daß in der Tat kein Ammoniaksalz vorliegt, kann nun aber direkt bewiesen werden, indem man die Grundsubstanz aus dem wässerigen Auszuge mit einem indifferenten Fällungsmittel abscheidet und die Abscheidung untersucht. Wird ein konzentrierter wässriger Auszug mit dem vierfachen Volumen Alkohol versetzt, so entsteht eine starke Fällung einer gummiartigen Substanz (s. oben), filtriert man diese ab und fügt zum Filtrate das gleiche Volumen Alkohol, so entsteht eine fast weiße Fällung. Diese wird ausgewaschen, getrocknet und zerrieben. Das stark süße Pulver wird aus Eisessig krystallisiert. Man erhält Krystalle von zweierlei Form, und die Analyse ergibt die Anwesenheit von Kalium und Calcium, sie zeigt also, daß ein Gemenge vorliegt, und daß das Glycyrrhizin aus dem Kalium- und Calciumsalze der Glycyrrhizinsäure besteht. Ein Ammoniaksalz ist nicht vorhanden. Auch Sestini ist der Ansicht, daß Glycyrrhizin eine Calciumverbindung sei.

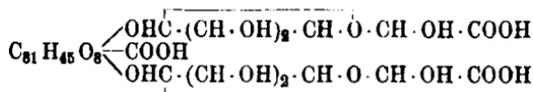
Die Menge Glycyrrhizin, die in der Droge sich findet, wird verschieden angegeben. Die älteren Autoren (Flückiger, J. H. Möller und andere) sprechen von 7,5%, und die übrigens sämtlich unbrauchbaren Wertbestimmungen der Droge, die zu braunschwarzen Produkten führen — das Glycyrrhizin ist farblos! — von noch höheren Zahlen. Tschirch und Relander fanden 2,5, Sestini 3,3%. Wir fanden im Mittel 3%.

Extrahiert man die Droge mit Alkohol, dampft zum Sirup und schüttelt mit Aether aus, so tritt an diesen ein fettartiger Körper der nach Süßholz riecht und einen unangenehm bitteren Geschmack besitzt. Er ist zu etwa 0,2% in der Droge enthalten.

Die Stellung der Glycyrrhizinsäure in der Gruppe der Süßstoffe.

Ueberschaut man die bisher bekannt gewordenen Süßstoffe, so läßt sich die Glycyrrhizinsäure nirgends anreihen. Sie bildet eine Gruppe für sich. Wir haben hier die merkwürdige Erscheinung, daß ein sauer schmeckender Körper mit einem geschmacklosen gepaart einen intensiv süß schmeckenden gibt. Aber so ganz auffällig ist die Sache doch nicht, wenn wir bedenken, daß die beiden Paarlinge offenbar zur Zuckergruppe in nahen Beziehungen stehen (s. oben) und die Glykuronsäure schon beim Anhydrisieren ein stark süß schmeckendes Anhydrid liefert.

Welches sind nun die „hedyophoren“¹⁾ Atomgruppen? Offenbar in erster Linie die in dem Glykuronsäurereste steckenden Hydroxylgruppen. Aber die Gründe, warum gerade das Glycyrrhizin einen so charakteristisch süßen Geschmack besitzt, liegen offenbar tiefer und stehen wohl in Beziehung zu den Verwandtschaftsverhältnissen der beiden Paarlinge und wohl auch zur uns noch unbekannt inneren Struktur der Glycyrrhetinsäure. Ueberhaupt läßt sich ja zur Zeit noch nicht viel über das Hedyophor sagen. Daß Hydroxyle und Amido- resp. Imidogruppen unter gewissen Umständen den süßen Geschmack bedingen können, wenn sie eine gewisse Stellung einnehmen, will doch noch nicht viel sagen. Es spielen hier offenbar noch andere Umstände mit. Jedenfalls muß der Glycyrrhizinsäure



eine besondere Stellung unter den Süßstoffen eingeräumt werden, und man darf sie nicht mehr, wie dies Fränkel²⁾ tut, in die Nähe des Aminotriazins stellen, denn sie enthält keinen Stickstoff.

Die Untersuchung wird fortgesetzt.

¹⁾ Ich habe 1898 diese Bezeichnung vorgeschlagen. Sternberg spricht (Ber. d. pharm. Ges. 1905) von saphiren Gruppen.

²⁾ Arzneimittelsynthese, 2. Aufl., S. 148.