

135. Über Hellebrin, ein krystallisiertes Glykosid aus Radix Hellebori nigri

von Walter Karrer.

(16. VI. 43.)

Schon seit mehr als 2000 Jahren stehen Vertreter der Pflanzengattung *Helleborus* in medizinischem Gebrauch. Die im alten Griechenland unter der Bezeichnung *Helleborus niger* (*Elleboros melas*) verwendete Art ist neueren Untersuchungen zufolge wohl nicht mit dem speziell in Süd- und Osteuropa vorkommenden *Helleborus niger* L. (Schwarze Nieswurz) identisch, sondern vielmehr mit dem auch heute noch in Griechenland und Kleinasien häufigen *Helleborus orientalis* Lam. (= *Helleborus officinalis* Salisberg). Diese zwei botanisch nahe verwandten Arten (*Helleborus niger* L. und *Helleborus orientalis* Lam.) scheinen qualitativ die gleichen physiologischen Wirkungen auszuüben.

Nach den griechischen Schriftstellern wurde *Helleborus niger* speziell bei Geisteskrankheiten, chronischen Gelenkkrankheiten und Wassersucht, ferner als Brech-, Nies- und Abführmittel verwendet. Wie verbreitet die Helleborustherapie im Altertum war und in wie hohem Ansehen sie stand, geht am besten daraus hervor, dass ein Mensch, der sich närrisch benahm, „*Helleborus*“ genannt wurde und dass der Ort, an welchem die besten Helleboruskuren durchgeführt wurden — Antikyra in Phokis — deswegen sprichwörtlich bekannt war.

Die Medizin des Mittelalters übernahm dann die Helleborustherapie der Griechen und Römer und verwendete hiezu die heute als *Helleborus niger* L. bezeichnete Art. Den schwarzbraunen Wurzeln dieser Pflanze kam hervorragende Bedeutung zu. Wie sehr sie z. B. von *Paracelsus* geschätzt wurden, geht am besten daraus hervor, dass dieser die schwarze Nieswurz in seinem „*Herbarius*“-Fragment an erste Stelle setzte. Auf Messen und Jahrmärkten wurde sie feilgeboten und der Umstand, dass die Pflanze mitten im Winter blüht (Christblume, Schneerose), brachte es mit sich, dass auch der Laie dieser Pflanze besondere göttliche Kräfte zuschrieb¹⁾.

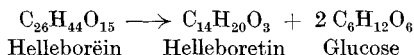
Im letzten Jahrhundert war *Radix Hellebori nigri* noch in einer grossen Zahl von Pharmacopöen officinell. Doch trat die Verwendung dieser Droge nach und nach stark zurück. Heute kommt ihr nur noch etwelche lokale Bedeutung zu, doch ist im Drogenhandel *Radix Hellebori nigri* immer noch in grösseren Mengen erhältlich.

Mit der chemischen Untersuchung der schwarzen Nieswurz haben sich seit Beginn des letzten Jahrhunderts eine Reihe von Forschern beschäftigt. Die erste ausführliche Arbeit ist diejenige von A. Husemann und W. Marmé²⁾. Diese isolierten aus der schwarzen Nieswurz zwei glukosidische Substanzen: das schon von früheren Forschern isolierte Helleborin und das Helleborëin; letzteres zeigte eine digitalis-

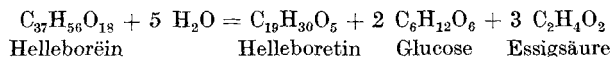
¹⁾ H. Peters, „Aus der Geschichte der Pflanzenwelt in Wort und Bild“ (Mittenwald 1928, S. 80). — H. Fischer, „*Helleborus* im Altertum und bei Paracelsus“ (Schw. med. W'schrift **66**, 484 (1936)). — F. Wick, „Beiträge zur Geschichte von *Helleborus* und *Veratrum*“ (Diss. Basel 1939).

²⁾ A. **135**, 55 (1865). Siehe hier auch die ältere Literatur.

artige Herzwirkung. Das Helleborëin wurde in durchsichtigen, erbsengrossen, aus mikroskopischen Nadeln zusammengesetzten Warzen erhalten, die an der Luft rasch kreideweiss wurden und ein gelblichweisses, sehr hygroskopisches Pulver gaben. Es war in Wasser sehr leicht, in Weingeist schwieriger, in Äther gar nicht löslich. Die wässrige Lösung trocknete beim Verdunsten zu einer durchsichtigen gelblichen, harzartigen Masse ein. Das bei 120° getrocknete Helleborëin von *Husemann* und *Marmé* enthielt 52,3 % C und 7,1 % H. Durch Säure wurde das Glykosid in 60 % Glucose und 40 % Helleboretin (graugrünes, amorphes Pulver) gespalten. Auf Grund dieser Spaltung und der Analysen stellten *Husemann* und *Marmé* folgende Gleichung auf:



*K. Thaeter*¹⁾ konnte das Helleborëin aus absolut alkoholischer Lösung als Konglomerat feiner Nadelchen isolieren, die sich leicht zu einem gelblichweissen Pulver zerreiben liessen. Die Analyse ergab 56,15 % C und 7,4 % H. Als Spaltprodukte wurden erhalten: Helleboretin, Glucose und Essigsäure, so dass folgende Gleichung aufgestellt wurde:



*E. Sieburg*²⁾ ging bei seinen Untersuchungen von Helleborëin „*Merck*“ aus, das als schwach gelbes, nicht krystallines, leicht lösliches Pulver charakterisiert wird; über 120° Aufblähung, $[\alpha]_D = -2,8^\circ$. Nach *Sieburg* kommt dem Helleborëin die Formel $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_{10}$ oder ein Vielfaches davon zu. Als Spaltstücke werden angegeben: zwei verschiedene Genine (saures und neutrales Helleboretin), Glucose, *l*-Arabinose und Essigsäure.

Neuerdings berichteten *A. Ossowski* und *H. Bukowiecki*³⁾, dass das von ihnen aus *Helleborus purpurascens* W. u. K. isolierte Helleborëin 54,95 % C, 7,71 % H und keine Acetylgruppe enthielt.

Es wurde schon erwähnt, dass Helleborëin eine digitalisartige Wirkung ausübt. *Husemann* und *Marmé* führen in ihrer oben-erwähnten Arbeit aus:

„Für ausgewachsene Katzen reichen etwa 300 mg Helleborëin, in den Magen gebracht, zur tödlichen Intoxikation aus; Tod durch Herzlähmung. Bei subcutaner Applikation bewirken sehr viel kleinere Dosen rasch den Tod.“

Als kleinste tödliche Helleborëin-Dosis für den Frosch werden 0,00025 g angegeben (für *Strophanthin* 0,000025 g)⁴⁾, als letale Dosis

¹⁾ Arch. Pharm. **235**, 414 (1897).

²⁾ Arch. Pharm. **251**, 154 (1913).

³⁾ C. **1937**, II, 4056.

⁴⁾ *M. Reeb*, Arch. exptl. Path. Pharmacol. **43**, 134 (1900).

an der Katze intravenös (nach *Hatcher* bzw. *Magnus*) 1,9 mg/kg (g-Strophanthin 0,1 mg)¹⁾.

Aus den angeführten Literaturangaben über Helleborin ist ersichtlich, dass dieser Name keiner einheitlichen, definierten Substanz zukommt. Als es mir daher vor einigen Jahren²⁾ gelang, aus *Radix Hellebori nigri* ein krystallisiertes, hochwirksames Glykosid zu isolieren, wählte ich — um Verwechslungen und weiteren Verwirrungen vorzubeugen — für dieses neue Glykosid die Bezeichnung Hellebrin.

Mehrere aus dem Handel bezogene Muster von *Radix Hellebori nigri* zeigten sehr grosse Unterschiede sowohl in bezug auf die Menge und das Aussehen der ätherlöslichen Bestandteile (Droge im *Soxhlet* mit Äther erschöpfend extrahiert) als auch in bezug auf die Herz-
wirkung (zur Prüfung gelangte jeweils ein wässriger Auszug der trockenen, feingemahlenen, mit Äther extrahierten Droge³⁾):

Droge bezogen aus:	Ätherlösliche Bestandteile (Öl)	F.D. ⁴⁾ pro 1 g der entfetteten Droge	ber. F.D./1 g der nicht entfetteten Droge
Schweiz.	6 %	30 000	ca. 28 000
Schweiz.	3,3%	25 000	24 000
Deutschland	13,7%	19 000	16 500
Deutschland	7,8%	25 000	23 000
Deutschland	3 %	38 000	37 000
Deutschland	7,4%	18 000	16 500
Deutschland	22,3%	22 000	17 000
Deutschland	8,3%	39 000	35 500
Frankreich	36,9%	15 000	9 500
Frankreich	19,4%	26 000	21 000
Österreich	12,4%	< 7 500	< 6 500
Österreich	9,6%	< 10 000	< 9 000
Ungarn	3,35%	25 000	24 000
Jugoslawien	18,5%	20 000	16 500
Jugoslawien	13 %	20 000	17 500
Jugoslawien	12,5%	22 000	19 000
Jugoslawien	21,75%	27 000	21 000
Jugoslawien	22,3%	22 500	17 500
Jugoslawien	10 %	< 3 000	< 2 700
Rumänien (Siebenbürgen)	9,3%	33 000	30 000
Rumänien (Siebenbürgen)	14 %	65 000	56 000
Rumänien (Siebenbürgen)	11,7%	43 000	38 000
Rumänien (Siebenbürgen)	6,4%	43 000	40 000
Rumänien (Siebenbürgen)	9,6%	36 000	32 500

¹⁾ *E. Frey*, Z. exptl. Path. Therap. **22**, 54 (1921).

²⁾ *W. Karrer*, „Festschrift *E. Ch. Borell*“, Basel 1936, S. 243.

³⁾ Alle in dieser Arbeit erwähnten biologischen Prüfungen wurden im pharmakologischen Institut der *F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.*, Basel, von Hrn. Prof. *K. Fromherz* ausgeführt.

⁴⁾ F.D. (Frosch-Dosis) = kleinste tödlich wirkende Menge Substanz für 1 g Frosch bei subcutaner Injektion. Die Auswertungen wurden an *Rana temporaria* nach der zeitlosen Methode von *Houghton-Straub* in den Monaten November bis März ausgeführt.

Zu dieser Tabelle ist zu bemerken, dass es sich bei den aus der Schweiz, Deutschland und Frankreich bezogenen Mustern jedenfalls um von jenen Ländern importierte Droge handelt. Eine besonders wirksame Helleborusdroge lieferte Siebenbürgen. Ob die grossen Unterschiede durch Varietäten der Pflanzenart oder nur durch Klima, Standort oder Erntezeit bedingt sind, entzieht sich meiner Kenntnis. Werte von 30000 bis 56000 F.D./g der trockenen, nicht entfetteten Droge sind als ausserordentlich hoch zu bezeichnen. Nur wenige andere Pflanzen enthalten in einzelnen ihrer Teile eine noch höhere Wirksamkeit: Samen verschiedener Strophanthusarten, Zwiebel und Blüte von *Boviea volubilis* Harv.¹⁾ Alle anderen bekannteren herzwirksamen Drogen (z. B. von *Digitalis*, *Adonis*, *Convallaria*, *Scilla*) zeigen geringere Wirksamkeit.

Auszüge aus den dicken Wurzelstöcken von *Helleborus niger* L. sind weniger wirksam als solche aus den dünneren Nebenwurzeln. So enthielten bei einer und derselben Pflanze:

die dicken Wurzelstöcke	24 000 F.D./g
die dünneren Nebenwurzeln.	41 000 F.D./g

Die Wurzeln einer aus Holland stammenden, grossblumigen *Helleborus niger*-Varietät, die bei uns auf Weihnachten von Blumen-
geschäften in den Handel kommt, enthielten in getrocknetem Zustand im März ca. 4000 F.D./g.

Zum Vergleich wurde auch ein Muster von *Radix Hellebori viridis* (grüne Nieswurz) herangezogen. Dieses enthielt 7500 F.D./g, also erheblich weniger als die meisten der untersuchten Muster von *Helleborus niger*. Die Angaben²⁾, wonach *Helleborus viridis* L. stärker wirksam ist als *Helleborus niger* und daher diesem vorzuziehen sei, sind jedenfalls — was die Herzwirkung anbetrifft — nicht zutreffend. Vielmehr bestätigt der Vergleich dieser beiden *Helleborus*-arten die Feststellungen von *Husemann* und *Marmé*³⁾, wonach die herzwirksame Substanz in der schwarzen Nieswurz viel reichlicher vorkommt als in der grünen. Dagegen wurden aus der grünen Nieswurz vier Alkaloide isoliert, die dieser Droge eine erhöhte Giftigkeit verleihen⁴⁾.

Das von mir isolierte Hellebrin erwies sich als eine einheitliche Substanz; weder durch fraktionierte Krystallisation noch durch chromatographische Adsorption konnte es in verschiedenartige Fraktionen zerlegt werden. Hellebrin bildet farblose Krystalle, die anfangs süsslich, dann intensiv bitter schmecken und nicht hygroscopisch sind. Die aus Methylalkohol krystallisierte Substanz zeigt

¹⁾ *R. Jaretsky*, Arch. Pharm. **273**, 345 (1935).

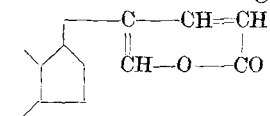
²⁾ Siehe z. B. *A. Tschirch*, „Handbuch der Pharmakognosie“, 2. Band, 2. Abtlg., S. 1587 (Leipzig 1917). ³⁾ *A. 135*, 55 (1865).

⁴⁾ *O. Keller*, Arch. Pharm. **266**, 545 (1928); *G. Franzen*, „Die pharmakologischen Eigenschaften der Helleborusalkaloide“ (Jena 1933).

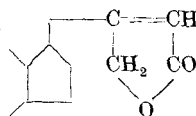
einen Schmelzpunkt von 283—284°. Es ist recht schwierig, sie in einigermassen gut ausgebildeten Einzelkrystallen zu erhalten. Auf Grund des ganzen chemischen und des physiologischen Verhaltens gehört das Hellebrin zur Gruppe der herzwirksamen Glykoside. Als Zuckerkomponente wurde Glucose festgestellt. Aus den Analysenwerten und aus der Molekulargewichtsbestimmung durch Lactontitration ergibt sich für das neue Glykosid sehr wahrscheinlich die Formel $C_{36}H_{52}O_{15}$.

Es muss jedoch erwähnt werden, dass sowohl beim Hellebrin als auch bei einigen seiner Derivate die Analysen Schwierigkeiten bereiteten und die erhaltenen Analysenresultate nicht immer eindeutig ausfielen. Vom Glykosid selbst wurden eine grössere Anzahl Analysen ausgeführt, wobei einerseits Werte von 58,3—58,6% C, andererseits Werte von 59,4—59,8% C erhalten wurden. Oft gab ein und dasselbe Substanzmuster nach dem Trocknen unter gleichen Bedingungen einmal den niederen, ein anderes Mal den höheren Wert. Eine Erklärung für dieses merkwürdige Verhalten kann nicht gegeben werden, doch sei daran erinnert, dass bei anderen herzwirksamen Glykosiden ähnliche Verhältnisse festgestellt worden sind, so von *A. Stoll* und *W. Kreis*¹⁾ bei Digitoxin und Desacetyl-digitanid A. Bei der Analyse des Hellebrins ergab sich auch immer und immer wieder ein wechselnder Acetylgehalt von 8—20% (Bestimmung nach *Kuhn* und *Roth*), während die Resultate der Laugenbehandlung (Zurücktitrieren der unverbrauchten Lauge) einen ganz eindeutigen Beweis für das Nichtvorhandensein von Acetylgruppen erbrachten. Im experimentellen Teil werden daher diese irreführenden Acetylbestimmungen beim Hellebrin nicht erwähnt. Für die oben angegebene Formel $C_{36}H_{52}O_{15}$ wurden die höheren Kohlenstoffwerte in Betracht gezogen. (Die C-Werte 58,3—58,6% würden für eine um eine OH-Gruppe reichere Verbindung $C_{36}H_{52}O_{16}$ stimmen.)

Hellebrin ist in Wasser und in Äthylalkohol schwer löslich (zu ca. 0,45 bzw. ca. 0,2 %), etwas leichter in Methylalkohol (zu 0,6—0,7 %), noch leichter in verdünntem Methyl- und Äthylalkohol; in Chloroform und in Äther ist es unlöslich. Für eine 1-proz. Lösung in 50-proz. Methylalkohol ist $[\alpha]_D^{20} = -23,4^\circ (\pm 0,2^\circ)$. Die Lösung von Hellebrin in konz. Schwefelsäure zeigt eine prachtvolle Rotfärbung. Bei der *Liebermann'schen* Cholestol-Reaktion entsteht zuerst eine Blaufärbung, die über Blaugrün in Grün übergeht. Hellebrin gibt weder die *Legal-Probe*²⁾ noch die *Baljet-Reaktion*³⁾. Diese zwei Farbreaktionen fallen bei allen denjenigen herzwirksamen Glykosiden, die einen ungesättigten Lacton-Fünfring enthalten, positiv aus, negativ dagegen bei Scillaren A und bei den Krötengiften (*Bufo*agine)⁴⁾, welche an Stelle des Lacton-Fünfringes einen Lacton-Sechsring enthalten:



Scillaren A und Bufagine



übrige Herzglykoside

¹⁾ *Helv.* **16**, 1391 unten (1933).

²⁾ *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, *J. Biol. Chem.* **67**, 333 (1926).

³⁾ *H. Baljet*, *Schw. Ap. Z.* **56**, 84 (1918).

⁴⁾ Ebenso bei den herzwirksamen Glykosiden aus der Zwiebel von *Bowiea volubilis* Harv., die aber konstitutionell noch nicht näher erforscht sind (*R. Jaretsky*, *Arch. Pharm.* **273**, 345 (1935)).

Auf einen in der Hellebrinmolekel vorhandenen Lacton-Sechsring weist auch eindeutig das Absorptionsspektrum. In vollkommener Übereinstimmung mit Scillaren A¹⁾ und den Bufaginen²⁾ zeigt Hellebrin in alkoholischer Lösung bei 300 m μ ein ausgesprochenes Maximum, das durch die drei konjugierten Doppelbindungen im Lacton-Sechsring bedingt wird:

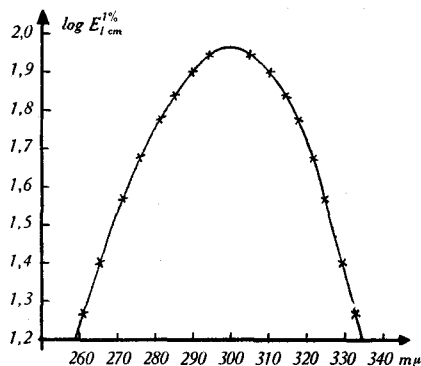


Fig. 1.

Hellebrin in verdünntem Alkohol (1:1).

Die *Rosenheim'sche* Sterin-Reaktion³⁾ mit Trichloressigsäure fällt beim Hellebrin negativ aus. Der positive Ausfall dieser Reaktion ist an das Vorhandensein einer Doppelbindung im Hydrophenanthren-Ringsystem gebunden. Während alle Sterine mindestens eine solche Doppelbindung enthalten, ist unter den herzwirksamen Glykosiden Scillaren A das einzige, das eine C-Kern-Doppelbindung besitzt und daher auch das einzige, das eine positive *Rosenheim'sche* Reaktion gibt. Adynerin⁴⁾ und Scillirosid⁵⁾, die eine besondere Doppelbindung in Stellung C₈—C₉ enthalten, unterscheiden sich in ihrem physiologischen Verhalten von den eigentlichen Herzglykosiden; für Scillirosid ist bekannt, dass es die *Rosenheim'sche* Reaktion nicht gibt. Beim Hellebrin entsteht bei der *Keller-Reaktion* in der Berührungszone des Eisessigs und der Schwefelsäure ein schmales Farbband, das in der Mitte braun ist und nach oben in Grün, nach unten in Gelb-orange übergeht.

Hellebrin ist physiologisch sehr stark wirksam; 1 g enthält 2500000—3200000 F.D. (die Schwankungen rühren von jahreszeitlichen Unterschieden des Froschmaterials her). Es ist also — am

¹⁾ A. Stoll und A. Hofmann, *Helv.* **18**, 401 (1935).

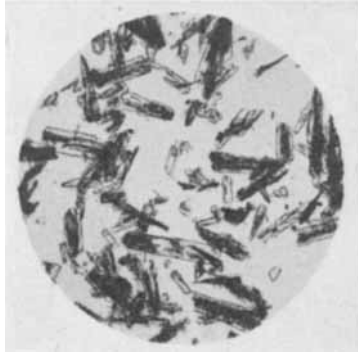
²⁾ H. Wieland, G. Hesse und R. Hüttel, *A.* **524**, 203 (1936); R. Tschesche und H. A. Offe, *B.* **69**, 2361 (1936).

³⁾ O. Rosenheim, *Biochem. J.* **23**, 47 (1929).

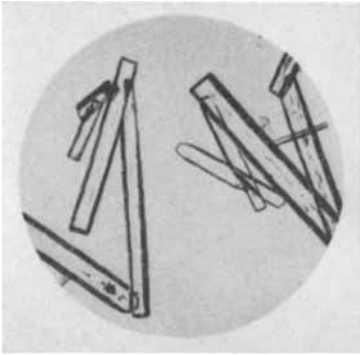
⁴⁾ R. Tschesche und K. Böhle, *B.* **71**, 654 (1938).

⁵⁾ A. Stoll und J. Renz, *Helv.* **25**, 43 (1942); A. Stoll, J. Renz und A. Helfenstein, *Helv.* **26**, 648 (1943).

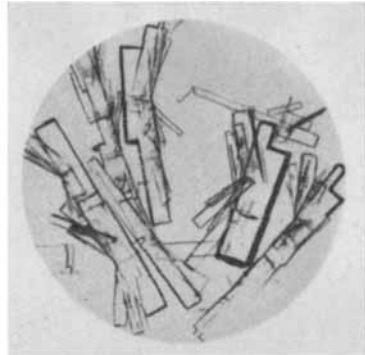
Tafel I.



Hellebrin
(35-fach vergrößert)



Hellebrin-Spaltprodukt
(23-fach vergrößert)

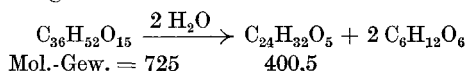


Acetyl-hellebrin
(14-fach vergrößert)

Frosch geprüft — noch wirksamer als g-Strophanthin und die Antiarine und wird in seiner Wirksamkeit nur vom Convallatoxin übertroffen, das mit 3 000 000—3 500 000 F.D./g das stärkste herzwirksame Glykosid ist¹⁾. Die letale Hellebrindosis für die Katze beträgt bei intravenöser Infusion nach *Magnus* ca. 0,1 mg/kg; oral wird 1 mg von der Katze symptomlos vertragen, 10 mg wirken dagegen tödlich. Vergleicht man diese Werte mit den oben erwähnten Angaben über Helleborëin, so ergibt sich, dass Hellebrin 20—30mal wirksamer ist als Helleborëin. Ein von mir nach den Angaben von *Husemann* und *Marmé* über die Tanninverbindung dargestelltes Helleborëin, das stark hygroskopisch war, hatte eine Wirksamkeit von 300 000 bis 400 000 F.D./g, was ungefähr 12 % der Wirksamkeit des Hellebrins entspricht.

Eine Lösung des Hellebrins wurde unter der Bezeichnung „Helleborsid“ klinisch geprüft, so von *Löffler*²⁾, *Scherf*³⁾, *Michaud*⁴⁾, *v. Zimmermann*⁵⁾, *Grossmann*⁶⁾ und anderen. Die Urteile über dieses Präparat lauten sehr günstig. Es wirkt ganz ähnlich wie Strophanthin und wird diesem sogar vielfach vorgezogen.

Eine glatte Spaltung des Hellebrins in Genin und Zucker gelingt nicht ohne weiteres. Beim Kochen des Hellebrins mit wässriger oder alkoholisch-wässriger Schwefelsäure konnte das Genin nicht in kristallisiertem Zustand erhalten werden. Dies erschwerte die weitere Untersuchung. Die Derivate konnten nicht vom einfacheren Genin, sondern mussten vom Glykosid selbst dargestellt werden, und das grosse Molekulargewicht der zuckerhaltigen Verbindungen erschwerte die eindeutige Auslegung der Analysenresultate. Die Spaltungen verliefen jeweils so, dass der chloroformlösliche amorphe Geninanteil 50—53 % der angewandten Hellebrinmenge betrug. Theoretisch wäre nach der Gleichung:



das Genin in einer Ausbeute von ca. 55 % zu erwarten. Die Differenz dürfte darauf zurückzuführen sein, dass die isolierte Geninsubstanz nicht mehr das intakte Genin darstellt. Als Zuckerkomponente wurde bei der Spaltung nur Glucose einwandfrei als Glucosazon nachgewiesen.

Ein erfreulicheres Spaltprodukt des Hellebrins wurde durch Alkoholyse nach der Methode von *Voss*⁷⁾ erhalten. Nach 10-tägigem Stehen einer Lösung bzw. Aufschlammung von Hellebrin in methyl-

¹⁾ *W. Karrer*, *Helv.* **12**, 506 (1929).

²⁾ *W. Löffler*, „Festschrift *E. Ch. Barell*“, Basel 1936, S. 69.

³⁾ *D. Scherf*, *Med. Klinik* **33**, 20 (1937).

⁴⁾ *L. Michaud*, *Rev. méd. Suisse Romande* **57**, 186 (1937).

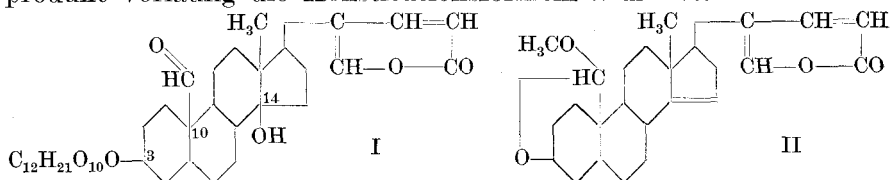
⁵⁾ *O. v. Zimmermann* und *Čičovački*, *Münchn. med. W'schrift* **85**, 505 (1938).

⁶⁾ *M. Grossmann* und *B. Benzon*, *Schw. med. W'schrift* **70**, 251 (1940).

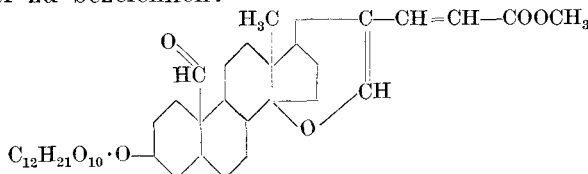
⁷⁾ *W. Voss* und *G. Vogt*, *B.* **69**, 2333 (1936).

alkoholischer Salzsäure bei Brutschranktemperatur hatten sich schöne Krystalle ausgeschieden, die nach zweimaligem Umkrystallisieren aus heissem Methylalkohol in schönen schlanken Prismen erhalten wurden; Smp. ca. 206°. Nach den Resultaten der Elementaranalyse und der Molekulargewichtsbestimmung entspricht dieses Spaltprodukt der Formel $C_{25}H_{32}O_4$. Die Verbindung enthält keinen aktiven Wasserstoff, also keine freie OH-Gruppe mehr, dagegen eine Methoxylgruppe. Die unter milden Bedingungen erfolgte Methylierung erinnert an die analogen Verhältnisse bei Strophanthidin¹⁾ und Convallatoxin²⁾. Es ist daher anzunehmen, dass sich wie bei κ -Strophanthin, Convallatoxin und β -Antiarin, auch beim Hellebrin am Kohlenstoff C_{10} eine Aldehydgruppe befindet. Die Einwirkung der alkoholischen Salzsäure führt einerseits zur Abspaltung von Zucker und 1 Mol Wasser, andererseits zur Bildung eines Cyclohalbacetals unter gleichzeitiger Verätherung der OH-Gruppe des Acetals. Neben dem bei der Alkoholyse des Hellebrins erhaltenen krystallisierten Spaltprodukt konnte α -Methyl- d -glykosid isoliert werden, ein weiterer Beweis dafür, dass der Zucker des Hellebrins Glucose ist.

Aus den ermittelten Bruttoformeln für das Glykosid und das Spaltprodukt und anlehnend an die Konstitution der bisher bekannten herzwirksamen Glykoside ergeben sich für Hellebrin und dessen Spaltprodukt vorläufig die Konstitutionsformeln I und II:



Sämtliche bisher bekannten herzwirksamen Glykoside enthalten den Zuckerrest in Stellung 3 und in Stellung 14 eine freie OH-Gruppe, die bei der Bildung der sogenannten Isoverbindungen in Reaktion tritt. In der Tat gelang es auch beim Hellebrin, durch Einwirkung von Alkali in methylalkoholischer Lösung eine krystallisierte Isoverbindung zu erhalten. Das Auftreten einer OCH_3 -Gruppe und der Umstand, dass die Verbindung — wie erwartet — praktisch keine Herzwirkung mehr besitzt (1 g < 10 000 F.D.) sprechen dafür, dass der Lactonring geöffnet worden ist. Die Verbindung, der folgende Formulierung zukommen dürfte, wäre also als Isohellebrinsäuremethyläther zu bezeichnen:



¹⁾ W. A. Jacobs und A. M. Collins, J. Biol. Chem. **59**, 713 (1924).

²⁾ L. F. Fieser und R. P. Jacobsen, Am. Soc. **59**, 2335 (1937).

Die für diese Verbindung gefundenen C-Werte liegen allerdings stets unter dem berechneten Wert, weshalb die Formulierung unter Vorbehalt gemacht werden muss. Vielleicht ist die Unstimmigkeit aber auch nur darauf zurückzuführen, dass die getrocknete Substanz stark hygroskopisch ist.

Schliesslich wurde durch Acetylierung des Hellebrins eine gut krystallisierte Acetylverbindung erhalten, die im Einklang mit der für Hellebrin angenommenen Formulierung 7 Acetylgruppen enthalten dürfte. Da die tertiäre OH-Gruppe nicht acylierbar ist, sind sämtliche 7 Acylreste in den Zuckerrest zu verlegen.

Experimenteller Teil.

Isolierung des Hellebrins.

260 kg mit Äther entfettete Droge (*Radix Hellebori nigri*) wurden mit 1700 Liter Wasser 24 Stunden ausgerührt. Dann wurde abgenutscht, mit Wasser nachgewaschen und das Filtrat mit einer konzentrierten Lösung von 14 kg Bleiacetat versetzt. Der Bleisalzniederschlag wurde abgenutscht und zum Filtrat so viel Dinatriumphosphatlösung zugefügt, bis eine filtrierte Probe sich als bleiionfrei erwies; der Verbrauch an Phosphat betrug 4—5 kg. In die entbleite Lösung wurden dann 180—200 kg Adsorptionskohle eingerührt. d. h. so viel, bis nach mehrstündigem Rühren eine filtrierte Probe nicht mehr bitter schmeckte. Das Kohleadsorbat wurde abgenutscht, mit etwas Wasser gewaschen und bei 35—40° getrocknet. Dann wurde es mit einem Gemisch gleicher Volumteile Methylalkohol und Methylenchlorid extrahiert. Aus dem Extrakt wurden nach dem Abdestillieren der Lösungsmittel etwa 15 kg fester Rückstand erhalten. Dieser wurde fein pulverisiert, mit der 6-fachen Menge absolutem Alkohol ausgerührt und abgenutscht. Das Filtrat wurde auf etwa 25 Liter eingengt und nach 3-tägigem Stehen die ausgeschiedene fast weisse Substanz, das Roh-Hellebrin, abgenutscht. Das alkoholische Filtrat wurde mit absolutem Alkohol auf etwa 35 Liter verdünnt und in diese Lösung 50 Liter Äther eingerührt. Nach 3-stündigem Stehen wurde die klare überstehende Lösung abgezogen und die schmierig ausgefallene Substanz getrocknet. Diese wurde dann in 15 Liter Methylalkohol gelöst und in die Lösung 55 Liter Methylenchlorid eingerührt. Nach mehrstündigem Stehen wurde der schlammige Niederschlag abgenutscht und das Filtrat auf etwa 20 Liter eingengt. Zu dieser Lösung wurden 15 Liter Äther gegeben und nach 12-stündigem Stehen die ausgefallene Substanz gesammelt und getrocknet. Sie wurde in 2 Liter Methylalkohol heiss gelöst. Beim Erkalten und beim weiteren Einengen der Lösung schieden sich dann noch reichliche Mengen des Roh-Hellebrins aus.

Zur Reinigung wurde das Rohglykosid in heissem Methylalkohol gelöst (je 60 g in 4—5 Liter), die Lösung filtriert und bis zur beginnenden krystallinen Abscheidung eingeengt. Nach dem Erkalten wurde abgenutscht und der Rückstand mit Methylalkohol gewaschen. Beim sukzessiven Einengen des Filtrates schieden sich noch weitere Mengen des krystallisierten Glykosides aus. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Methylalkohol wird das Hellebrin analysenrein erhalten; Smp. 283—284°.

3,750; 3,836 mg der 10 Stunden bei 90° im trockenen Luftstrom getrockneten Subst. gaben 8,164; 8,396 mg CO₂ und 2,409; 2,524 mg H₂O (E.T.H.)

4,036; 3,700; 4,015; 3,656; 3,720; 3,672; 3,738; 3,716 mg der 60 Stunden bei 60—100° im Hochvakuum getrockneten Subst. gaben 8,854; 8,096; 8,793; 7,981; 7,964; 7,848; 8,029; 7,976 mg CO₂ und 2,554; 2,440; 2,677; 2,309; 2,440; 2,410; 2,432; 2,432 mg H₂O

C ₃₆ H ₅₂ O ₁₅ (724,78)	Ber. C 59,65	H 7,23%	
C ₃₆ H ₅₂ O ₁₆ (740,78)	Ber. „ 58,37	H 7,08%	Mittel:
	Gef. ¹⁾ „ 59,41; 59,73; 59,86	„ 7,18; 7,36; 7,08	C 59,67%
	59,71; 59,76; 59,57	7,38; 7,46; 7,07	H 7,25%
	58,42; 58,33; 58,62	7,34; 7,35; 7,28	C 58,48%
	58,57%	7,32%	H 7,32%

Molekulargewichtsbestimmung durch Lactontitration:

Die Subst. wurde in 40 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst und nach Zugabe von 15 cm³ 0,1-n. NaOH 24 Stunden stehen gelassen. 0,5000; 0,4934; 0,4703 g Subst. verbrauchten 6,85; 6,85; 6,50 cm³ 0,1. NaOH.

C₃₆H₅₂O₁₅ Mol.-Gew. Ber. 724,78
Gef. 730; 720; 724

Polarisation:

Von zwei verschiedenen Hellebrinmustern wurden 1-proz. Lösungen in 50-proz. (Gew. %) Methylalkohol dargestellt und bei 20° im 10 und 20 cm-Rohr polarisiert. Die durchschnittlichen Werte von je 10—12 Ablesungen betrugen:

Im 10 cm-Rohr $\alpha = -0,233$ und $-0,233^0$

Im 20 cm-Rohr $\alpha = -0,472$ und $-0,464^0$

$[\alpha]_D^{20} = -23,4^0 (\pm 0,2^0)$

Spaltung des Hellebrins.

a) Hydrolyse.

0,60 g Hellebrin wurden mit 20 cm³ 10-proz. wässriger Schwefelsäure 5—6 Stunden am Rückfluss gekocht, wobei sich eine gelbliche Substanz ausschied. Nach dem Erkalten wurde 2mal mit Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten Chloroformauszüge mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Filtrieren und Abdestillieren des Chloroforms wurde der Rückstand im Vakuum getrocknet: 0,32 g hellgelbes, amorphes Pulver. Ausbeute, bezogen auf die angewandte Hellebrinmenge, ca. 53 %.

Bei einem zweiten Ansatz wurde die Substanz in einer Ausbeute von 51,5 % erhalten.

¹⁾ Siehe Bemerkung in den einleitenden Ausführungen.

Die mit Chloroform ausgeschüttelte, schwefelsaure wässrige Lösung wurde neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert und nach Zugabe von etwas Natriumacetat mit 1 g Phenylhydrazin $\frac{1}{2}$ Stunde auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurden die ausgeschiedenen gelben Nadelchen abgenutscht und aus Pyridin und Wasser umkrystallisiert; Smp. 203° . Aus Glucose hergestelltes Glucosazon schmolz bei 204° ; Mischschmelzpunkt = 203° .

b) Alkoholyse.

2 g Hellebrin wurden in 30 cm^3 2,5-proz. methylalkoholischer Salzsäure suspendiert und die Lösung in den Brutschrank (38°) gestellt. Ab und zu wurde etwas umgeschüttelt und am 5. und 8. Tag wurden je 5 cm^3 5-proz. methylalkoholische Salzsäure zugegeben. Das Hellebrin war am 6. Tag vollkommen in Lösung gegangen und am 7. Tag begann die Ausscheidung von Krystallen. Am 11. Tag wurde abgenutscht und mit etwas Methylalkohol nachgewaschen: 0,4 g hellbraune, derbe Krystalle. Sie wurden aus 20 cm^3 heissem Methylalkohol unter Zusatz von etwas Entfärbungskohle umkrystallisiert und die erhaltenen Krystalle nochmals aus Methylalkohol umkrystallisiert. Auf diese Weise wird das Hellebrin-Spaltprodukt in schönen, schlanken Prismen erhalten; Smp. ca. 206° . *Liebermann'sche* Reaktion: Blau $\rightarrow$ grün. Die *Keller-Reaktion* ist gleich wie beim Glykosid, nur intensiver: An der Berührungszone der Schwefelsäure- und Eisessigschicht entsteht ein schmales braunes Farbband, das nach unten von einer schmalen gelborangen, nach oben von einer grünen Zone begrenzt wird. Die *Rosenheim'sche* Reaktion fällt, wie beim Glykosid, negativ aus. 1 g der Substanz enthält weniger als 200 000 F.D.; infolge der Schwerlöslichkeit konnten grössere Dosen nicht geprüft werden.

3,821 mg der 10 Stunden bei 90° im trockenen Luftstrom getrockneten Subst. gaben 10,600 mg CO_2 und 2,587 mg H_2O (E.T.H.).

3,923; 3,936; 3,728 mg der 48 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrockneten Subst. gaben 10,869; 10,945; 10,328 mg CO_2 und 2,721; 2,770; 2,579 mg H_2O

4,006; 9,610; 13,000 mg Subst. gaben 2,435; 5,584; 7,570 mg AgJ

$\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (396,5)	Ber. C 75,72	H 8,13%
	Gef. „ 75,71; 75,61; 75,88; 75,60	„ 7,58; 7,76; 7,88; 7,74%
	Ber. OCH_3 7,83%	
	Gef. „ 8,03; 7,68; 7,69%	

0,450; 0,404; 0,728 mg Subst. gaben in 4,118; 4,342; 6,170 mg Campher nach *Rast* eine Schmelzpunktserniedrigung von 11,2; 9,2; $11,8^{\circ}\text{C}$

Mol.-Gew. Ber. 396,5

Gef. 381; 394; 390

Die ursprüngliche, von den Krystallen befreite methylalkoholische Salzsäure wurde mit Wasser verdünnt und dann 2mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung hinterliess beim Abdestillieren des Lösungsmittels eine hellbraune amorphe Substanz, die nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Die vom

Chloroform abgetrennte alkoholisch-wässrige Lösung wurde mit Natriumcarbonat neutralisiert und im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde mehrmals mit Aceton ausgekocht, die Acetonlösung eingengt und mit Äther bis zur beginnenden Trübung versetzt. Beim Stehen im Eisschrank schieden sich nadelförmige Krystalle aus. Sie wurden abgetrennt und aus Alkohol umkrystallisiert; Smp. 166°, d. h. gleich wie der in der Literatur für α -Methyl-*D*-glucosid angegebene.

3,597 mg der bei 100° getrockneten Subst. gaben 5,730 mg CO₂ und 2,380 mg H₂O

C₇H₁₄O₆ (194,18) Ber. C 43,40 H 7,27%
Gef. „ 43,45 „ 7,40%

Isohellebrinsäure-methyläther.

5 g bei 100° getrocknetes Hellebrin wurden in 30 cm³ Methylalkohol suspendiert und zu der mit Eis gekühlten Aufschlammung 30 cm³ einer 20-proz. methylalkoholischen Kalilauge gegeben. Unter öfterem Umschütteln trat in etwa ¼ Stunde Lösung ein. Nach weiterem ¾-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde die ganz schwach gelblich gefärbte Lösung in 250 cm³ Eiswasser gegossen und dann konz. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion eingetragen. Der Isohellebrinsäure-methyläther fiel feinkrystallin aus. Nach Stehen über Nacht im Eisschrank wurde abzentrifugiert, der Niederschlag abgenutscht und mit etwas kaltem Wasser gewaschen. Der Rückstand (ca. 5 g) wurde aus 80 cm³ heissem Methylalkohol umkrystallisiert. Es wurden 3,1 g zu Büscheln oder Warzen vereinigte, zugespitzte dünne Blättchen erhalten, die bei 195—200° anfangen zu sintern; gegen 230° zersetzt sich die Substanz unter Gasentwicklung. In Methylalkohol löst sich der Isohellebrinsäure-methyläther viel leichter als Hellebrin. Im Gegensatz zu letzterem fällt die *Liebermann*'sche Reaktion negativ aus.

3,416 mg der 10 Stunden im trockenen Luftstrom bei 90° getrockneten Subst. gaben 7,431 mg CO₂ und 2,354 mg H₂O (E.T.H.)

4,010 mg der 48 Stunden bei 100° im Hochvakuum getrockneten Subst. gaben 8,462 mg CO₂ und 2,636 mg H₂O.

9,994 mg Subst. gaben 3,378 mg AgJ

C₃₇H₅₄O₁₅ (738,8) Ber. C 60,15 H 7,37 OCH₃ 4,20%
Gef. „ 59,37; 57,59 „ 7,71; 7,36 „ 4,46%

0,430; 0,374; 0,730; 0,816; 0,374 mg Subst. gaben in 4,052; 3,252; 4,310; 5,774; 3,430 mg Campher nach *Rast* eine Schmelzpunktserniedrigung von 5,2; 6,0; 8,6; 7,6; 5,6° C.

Mol.-Gew. Ber. 738,8

Gef. 796; 748; 770; 725; 760

Acetyl-hellebrin.

2 g Hellebrin wurden mit 2 g getrocknetem Natriumacetat und 20 cm³ Essigsäure-anhydrid ½ Stunde am Rückfluss gekocht. Die schwach bräunlich gefärbte Lösung wurde dann in Eiswasser ein-

gerührt, wobei die Acetylverbindung als hellbraunes Öl zu Boden fiel. Die überstehende Lösung wurde abgegossen und nach Zugabe von neuem Eiswasser das am Boden befindliche Öl gut verrieben. Dieses erstarrte bald und liess sich zu einem sandigen Produkt zerreiben. Es wurde abgenutscht, gut mit Eiswasser gewaschen und im Exsikkator getrocknet: 2,5 g Rohprodukt in Form eines grauen Pulvers. Es wurde in 13 cm³ heissem Methylalkohol gelöst und die Lösung nach Zusatz von etwas Entfärbungskohle filtriert. Beim Abkühlen mit Eis erstarrte die Lösung zu einer Gallerte, die sich bei Zimmertemperatur unter Abscheidung von bis 2 cm langen glänzenden, nadelförmigen Krystallen wieder verflüssigte. Die Krystalle wurden abgenutscht, mit wenig Methylalkohol gewaschen und nochmals aus 13 cm³ heissem Methylalkohol umkrystallisiert. Das Acetylhellebrin schied sich beim Erkalten der Lösung in gut ausgebildeten Prismen aus. Diese glänzenden Krystalle wurden an der Luft schnell matt und nahmen ein kreidiges Aussehen an. Sie wurden im Vakuum bei 50° 2 Stunden getrocknet. Die Substanz hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Sie beginnt bei etwa 159° zu sintern und ist bei 165° ganz geschmolzen.

3,689 mg der 10 Stunden im trockenen Luftstrom bei 90° getrockneten Subst. gaben 7,94 mg CO₂ und 2,29 mg H₂O (E.T.H.)

3,923 mg der 48 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrockneten Subst. gaben 8,374 mg CO₂ und 2,267 mg H₂O

C ₅₀ H ₆₆ O ₂₂ (1019)	Ber. C 58,93	H 6,53%
	Gef. „ 58,74; 58,25	„ 6,95; 6,47%

0,2000 g Subst. wurden im Quarzkölbehen mit 5 cm³ n. NaOH 3 Tage stehen gelassen und dann die überschüssige Natronlauge mit 0,1-n. HCl zurücktitriert. Laugenverbrauch = 14,9 cm³ 0,1-n. NaOH. Für 1 Lacton- und 7 Acetylgruppen berechnet sich daraus ein Mol.-Gew. von $8 \times 134,2 = 1073,6$.

Die Mikroanalysen wurden zum Teil in unserem mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt, zum Teil im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Leitung Dr. H. Gubser).

Basel, Wissenschaftliche Laboratorien der
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.