

195. Die Konstitution des Hellebrigenins.

Glykoside und Aglykone, 48. Mitteilung¹⁾

von **J. Schmutz.**

(3. VI. 49.)

Hellebrin, das von *W. Karrer*^{a)} aus dem Rhizom der Christrose (*Helleborus niger* L.) isolierte stark herzwirksame Diglykosid lässt sich mit Strophanthobiase in D-Glucose und Desgluco-hellebrin zerlegen^{c)}. Letzteres lieferte bei der Spaltung mit HCl in Aceton nach *Mannich* und *Siewert*³⁾ L-Rhamnose und zwei anscheinend verschiedene Genine, die als Hellebrigenin A und B bezeichnet wurden, aber damals nicht weiter untersucht werden konnten. Die Isolierung der L-Rhamnose erforderte eine Modifizierung der von *Karrer*^{b)} für Hellebrin abgeleiteten Formel; es wurde daher Formel X für Hellebrin, XI für Desgluco-hellebrin und XIII für das Genin vorgeschlagen. Das Vorhandensein der Aldehydgruppe, die durch ein kryst. Oxim charakterisiert worden war^{c)}, konnte inzwischen von *Buzas* und *Reichstein*^{d)} durch Überführung von Desgluco-hellebrin-triacetat (XII) in Desgluco-hellebrin-triacetat-säure-methylester (I) eindeutig bewiesen werden. In vorliegender Arbeit wird die Formel des Hellebrigenins (XIII) durch Überführung in zwei aus Strophanthidin (VIII) und Strophanthidol (XIX) erhältliche Abbauprodukte bewiesen.

Zunächst wurde festgestellt, dass die früher als Hellebrigenin A (Platten, Smp. 150°) und Hellebrigenin B (Nadeln, Smp. 250°) bezeichneten Substanzen offenbar nur Krystallmodifikationen eines und desselben Stoffes darstellten, der in Zukunft daher einfach Hellebrigenin (XIII) genannt wird. Die in kleiner Menge erhaltene tiefer schmelzende Modifikation hatte sich bei längerem Aufbewahren in die höher schmelzende verwandelt und wurde nicht wieder erhalten.

Hellebrigenin (XIII) und besonders sein Acetat erwiesen sich bei der Prüfung an der Katze⁴⁾ als ausserordentlich stark toxisch (siehe Tabelle). Letzteres war noch etwas stärker wirksam als Convallatoxin (VII) und Desgluco-hellebrin (XI) und übertrifft in dieser Prüfung somit alle bisher bekannten Herzgifte. Soweit mir bekannt, ist es auch der erste Fall, wo ein Aglykon stärker wirksam ist als das entsprechende Glykosid.

¹⁾ 47. Mitt. *P. Speiser*, *Helv.* **32**, 1368 (1949).

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Seite 1445.

³⁾ *C. Mannich, G. Siewert*, *B.* **75**, 737 (1942).

⁴⁾ Diese und die folgenden biologischen Prüfungen wurden von Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, ausgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

Bei der *Mannich*-spaltung einer grösseren Menge von Desglucosellebrin (XI) konnte neben Hellebrigenin (XIII) nach Chromatographie noch ein weiterer krystallisierter Stoff vom Smp. 206—209° isoliert werden. Nach den Analysenresultaten handelt es sich um ein Monoanhydro-hellebrigenin, dem wahrscheinlich die Formel IV zukommt. Bei der Prüfung an der Katze¹⁾ erwies er sich als praktisch unwirksam²⁾. Acetylierung lieferte ein krystallisiertes Acetat V, das von Hellebrigenin-acetat (XIV) eindeutig verschieden war und das in zwei Krystallmodifikationen erhalten wurde. Die tiefschmelzende Form (Smp. 108°) liess sich durch Impfen in die höher schmelzende Form (Smp. 218°) umwandeln. Das Anhydro-acetat V verbrauchte bei der Mikrohydrierung etwas mehr Wasserstoff als Hellebrigenin-acetat (XIV).

Zur Abklärung der Struktur wurde Hellebrigenin-acetat (XIV) zunächst vorsichtig mit CrO₃ oxydiert, wobei die krystallisierte Hellebrigenin-acetat-säure (II) entstand. Durch kurze Einwirkung von Diazomethan gelang es, daraus in mässiger Ausbeute den krystallisierten Methylester III zu bereiten. Dieser Ester lieferte beim Abbau mit KMnO₄ in Aceton neben wenig neutralen zur Hauptsache saure Anteile, die direkt mit Diazomethan methyliert wurden.

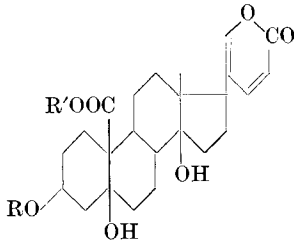
Der so erhaltene Dimethylester schmolz zunächst bei 127° und der Schmelzpunkt blieb auch nach wiederholtem Umkrystallisieren konstant. Durch Nachacetylieren und anschliessende Chromatographie stieg er aber auf 154° und das so gereinigte Produkt erwies sich nach Mischprobe, Drehung und Analyse als identisch mit dem 3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-iso-21-norpregnan-19,20-disäure-dimethylester (XV), der von *Buzas* und *Reichstein*¹⁾ durch Abbau von Strophanthidin-acetat (IX) erhalten worden war.

Derselbe Ester XV liess sich einfacher und in besserer Ausbeute durch direkte Oxydation von Hellebrigenin-acetat (XIV) mit KMnO₄ in Aceton und Behandlung des Rohproduktes mit Diazomethan bereiten. Nach chromatographischer Vorreinigung schmolz das Produkt zunächst aber noch tiefer, bei ca. 110°, und liess sich auch durch öfteres Umkrystallisieren nicht auf einen höheren Schmelzpunkt bringen, auch die spez. Drehung war etwas zu tief. Wahrscheinlich enthielt dieses Material noch etwas Ketolacton XVI, da von *K. Meyer*³⁾ beim KMnO₄-Abbau von Bufalin-acetat eine relativ grosse Menge eines analogen Lactons erhalten wurde. Das ganze Rohprodukt wurde daher 2 Tage mit KHCO₃ in wässrigem Methanol stehen ge-

¹⁾ Diese und die folgenden biologischen Prüfungen wurden von Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, ausgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

²⁾ Durch dieses, von Herrn Dr. *K. K. Chen* freundlichst übermittelte Resultat wurde die Verschiedenheit von Hellebrigenin zuerst festgestellt, da IV und XIII bei der Mischprobe keine eindeutige Schmelzpunktniedrigung gaben.

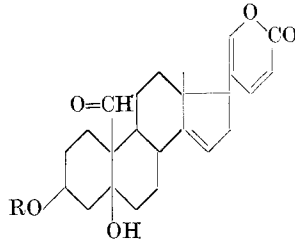
³⁾ *K. Meyer*, Exper. **4**, 385 (1948).



I (R = Triacetyl-rhamnosido-rest; R' = CH₃)
Desgluco-hellebrin-acetat-methylester.
F. 150°/257° [- 7 Chf]^d)

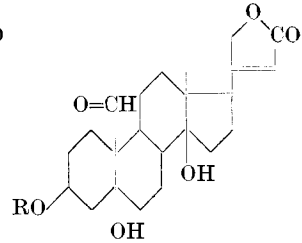
II (R = Ac; R' = H) Hellebrigenin-acetat-säure. F. 230°

III (R = Ac; R' = CH₃) Hellebrigenin-acetat-säure-methylester F. 243° [+ 52 Chf]



IV (R = H) Anhydro-hellebrigenin F. 206°
[+ 26 An]

V (R = Ac)
F. 108°/218°
(+ 26 Chf]

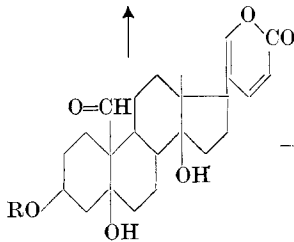


VI (R = Glucosido-rhamnosido-rest) Convallosid
F. 201° [- 10 Al]^e)

VII (R = Rhamnosido-rest) Convallatoxin
F. 249° [± 0 Me]^f)

VIII (R = H) Strophanthidin
F. 136°/220° (+ 41 Al)^g)^h)

IX (R = Ac) Strophanthidin-acetat F. 248° [+ 56 Chf]^h)



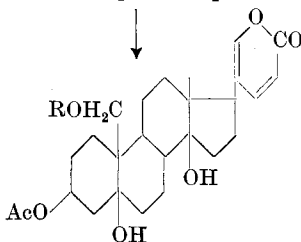
X (R = Glucosido-rhamnosido-rest)
Hellebrin F. 283° [- 23 Me]^a)^b)

XI (R = Rhamnosido-rest) Desgluco-hellebrin F. 269° [- 25 Me]^c)

XII (R = Triacetyl-rhamnosido-rest)
Desglucohellebrin-triacetat
F. 157°/216° [- 22 Chf]^d)

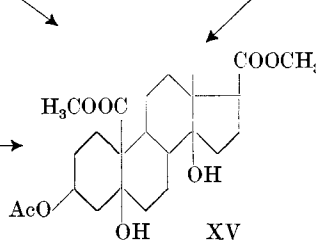
XIII (R = H) Hellebrigenin
F. 150°/237° [+ 18 An]

XIV (R = Ac) Hellebrigenin-acetat
F. 242° [+ 34 Chf]

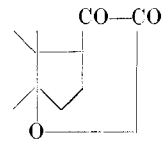


XVII (R = H) Hellebrigenol-monoacetat
F. 146°/257° [+ 8 An]

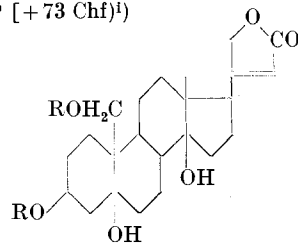
XVIII (R = Ac) Hellebrigenol-diacetat
F. 126° [+ 36 Chf]



XV F. 158° [+ 73 Chf]^l)

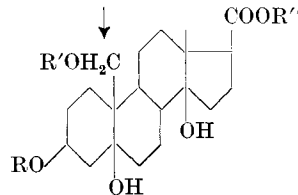


XVI



XIX (R = H) Strophanthidol F. 138° [+ 37 Me]^k)^l)

XX (R = Ac) Strophanthidol-diacetat
F. 190° [+ 49 Chf]^k)^l)



XXI (R = R' = Ac; R'' = H) amorph^m)ⁿ)

XXII (R = R' = R'' = H) F. 217° [+ 39 An]^m)ⁿ)

XXIII (R = R' = H; R'' = CH₃)
F. 168° [+ 60 Chf]^m)

Ac = CH₃CO—; die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an:

An = Aceton; Al = Alkohol; Chf = Chloroform; Me = Methanol.

lassen, die neutral gebliebenen Anteile nachacetyliert und chromatographiert. Das so gereinigte Material zeigte noch einen Doppelschmelzpunkt, aber nach Umkrystallisieren war der richtige Smp. 157° erreicht und das Produkt erwies sich mit dem Präparat XV aus Strophanthidin als identisch. Es ist nicht ausgeschlossen, dass der Dimethylester in zwei Krystallmodifikationen existiert, von denen sich die höher schmelzende erst nach sehr weitgehender Reinigung bildet.

Die leicht schwankenden Eigenschaften des Methylesters XV machten das Abbauergebnis etwas unsicher, daher wurde versucht, es noch durch einen zweiten Abbau zu sichern. Dies gelang auf folgendem Wege. Hellebrigenin-acetat (XIV) wurde nach *Meerwein-Ponndorf*¹⁾ reduziert und gab in guter Ausbeute das krystallisierte Hellebrigenol-monoacetat-(3) (XVII). Dieser Stoff enthielt noch den unveränderten doppelt ungesättigten Lactonring, denn er zeigte im Ultraviolett die für dieses System typische selektive Absorption (siehe Kurve).

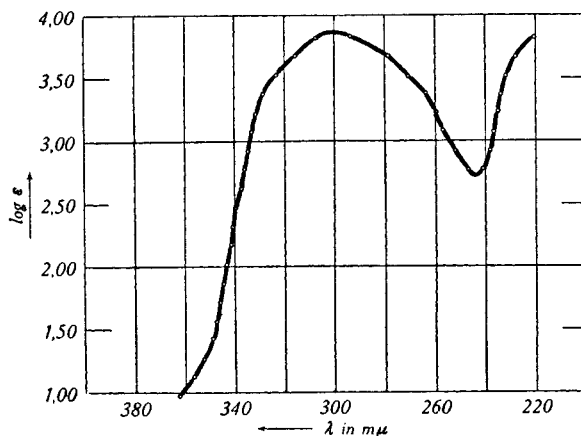


Fig. 1.

Hellebrigenol-monoacetat-(3) (XVII) in Alkohol.

- a) *W. Karrer*, Festschrift *E. C. Borell*, Basel 1936, S. 243.
 b) *W. Karrer*, *Helv.* **26**, 1353 (1943).
 c) *J. Schmutz*, *Pharm. acta Helv.* **22**, 373 (1947).
 d) *A. Buzas*, *T. Reichstein*, *Helv.* **31**, 110 (1948).
 e) *J. Schmutz*, *T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **22**, 359 (1947).
 f) *W. Karrer*, *Helv.* **12**, 506 (1929); *T. Reichstein*, *A. Katz*, *Pharm. acta Helv.* **18**, 521 (1943).
 g) *F. Feist*, *B.* **31**, 534 (1898); **33**, 2069 (1900); *A. Windaus*, *L. Hermanns*, *B.* **48**, 997 (1915).
 h) *T. Reichstein*, *H. Rosenmund*, *Pharm. acta Helv.* **15**, 150 (1940).
 i) *A. Buzas*, *T. Reichstein*, *Helv.* **31**, 84 (1948).
 k) *E. Rabald*, *J. Kraus*, *Z. physiol. Ch.* **265**, 39 (1940).
 l) *W. Blome*, *A. Katz*, *T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **21**, 325 (1946).
 m) *M. Ehrenstein*, *A. R. Johnson*, *J. Org. Chem.* **11**, 823 (1946).
 n) *H. Koechlin*, *T. Reichstein*, *Helv.* **30**, 1673 (1947).
 o) *H. Meerwein*, *A.* **444**, 221 (1925); *W. Ponndorf*, *Z. angew. Ch.* **39**, 138 (1926).

Er erwies sich an der Katze auch als äusserst stark wirksam (siehe Tabelle). Acetylierung von XVII gab das krystallisierte Hellebrigenol-diacetat (XVIII). Dieses Diacetat lieferte bei der Oxydation mit KMnO_4 in Aceton neben wenig neutralen Anteilen eine amorphe Säure XXI. Alkalische Verseifung gab daraus die krystallisierte 3 β ,5,14,19-Tetraoxy-14-iso-ätio-cholansäure (XXII)^{m,n}), die sich mit authentischem Material, das aus Strophanthidol-diacetat (XX) durch Ozonabbau gewonnen wurde¹⁾, als identisch erwies. Der aus der Säure XXII mit Diazomethan bereitete Methylester XXIII^m) blieb lange amorph, krystallisierte aber beim Animpfen mit einem von *Ehrenstein* erhaltenen Originalpräparat²⁾ sofort und erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe, Drehung und Analyse als völlig identisch mit diesem. Ganz analog verhielt sich der aus Strophanthidol durch Ozonabbau etc. erhaltene Methylester XXIII.

Da die Konstitution und Konfiguration des Strophanthidins und Strophanthidols weitgehend gesichert sind³⁾, ist durch diesen Abbau, der auf zwei Wegen und unter Bedingungen ausgeführt wurde, die eine Isomerisierung weitgehend ausschliessen, auch die Formel XIII von Hellebrigenin bewiesen. Dieses unterscheidet sich von Strophanthidin (VIII) nur durch den Bau des Lactonringes. Möglicherweise ist dies auch der einzige Unterschied zwischen Hellebrin (X) und Convallosid (VI)^e), sowie zwischen Desgluco-hellebrin (XI) und Convallotoxin (VII), denn diese Glykoside enthalten jeweils dieselben Zucker, hingegen ist es bisher noch unsicher, ob die Bindungsart der Zucker bei beiden dieselbe ist.

Toxizität für die Katze.

Substanz	Anzahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg
Convallosid (VI) ^e)	10	0,2150 \pm 0,0132
Hellebrin (X) ^{a,b})		0,1040 \pm 0,0030
Convallotoxin (VII)		0,0790 \pm 0,0031 ⁴⁾
Desgluco-hellebrin (XI)		0,0869
Hellebrigenin (XIII)	10	0,07695 \pm 0,00547
Hellebrigenin-acetat (XIV)	10	0,0642 \pm 0,0029
Hellebrigenol-monoacetat-(3) (XVII)	10	0,07688 \pm 0,00352
Strophanthidin (VIII)		0,3250 \pm 0,0232 ⁴⁾

¹⁾ Siehe experimenteller Teil.

²⁾ Ich danke Herrn Dr. *M. Ehrenstein* bestens für eine Probe dieses Materials.

³⁾ Vgl. die Übersicht von *R. B. Turner*, Chem. Reviews **43**, 1 (1948).

⁴⁾ *K. K. Chen*, Ann. Rev. Physiol. **7**, 677 (1945).

In vorstehender Tabelle sind die von Herrn Dr. K. K. Chen ermittelten Toxizitäten von XIII, XIV, XVII¹⁾ und zum Vergleich die entsprechenden Werte für einige verwandte Stoffe wiedergegeben.

Ich danke Herrn Prof. T. Reichstein für seine wertvollen Ratschläge und der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co., A.G., Basel, für die Überlassung von 10 g Hellebrin.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze bis $200^{\circ} \pm 2^{\circ}$, über 200° ca. $\pm 3^{\circ}$. Substanzproben für die Drehungen wurden 2 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet; zur Analyse, wo nichts anderes erwähnt, 4 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 . „Schweinechen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinechen eingewogen wurde. „Übliche Aufarbeitung“ bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform (oder Äther), Waschen mit verdünnter HCl (bei CrO_3 -Oxydationen mit H_2SO_4), Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen.

Hellebrigenin (XIII).

a) Tiefschmelzende Form: Die früher in sehr kleinen Mengen erhaltene und als Hellebrigenin-A^c) bezeichnete Substanz vom Smp. $150-153^{\circ}$ (Platten) und der Formel $C_{24}H_{32}O_6$ zeigte nach längerem Aufbewahren einen Doppelschmelzpunkt $155^{\circ}/249-253^{\circ}$ und erwies sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit dem früher beschriebenen Hellebrigenin-B^c) (zu Drusen vereinigte stumpfe Nadeln) als identisch. Diese tiefschmelzende Form wurde seither nicht mehr erhalten.

b) Hochschmelzende Form: früher als Hellebrigenin-B^c) bezeichnet. Zu Drusen vereinigte Nadeln. Der Smp. $250-253^{\circ}$ (Zers.) ist schwer zu erreichen und gilt nur für relativ grobe Krystalle, meistens schmilzt Hellebrigenin bei $237-240^{\circ}$ (Zers.); $[\alpha]_D^{17} = +17,8^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,783$ in Aceton).

7,840 mg Subst. zu $0,9998 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +0,14^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Toxizität an der Katze siehe theoretischer Teil.

Spaltung einer grösseren Menge von Desgluco-hellebrin (XI).

7,2 g Desgluco-hellebrin (XI) vom Smp. $239-243^{\circ}$ wurden genau wie früher beschrieben^{c)} nach Mannich und Siewert in Aceton und HCl gespalten und in wässrigem Methanol nachhydrolysiert. Das mit Chloroform ausschüttelbare rohe Genin wog 6,85 g und wurde an 180 g alkalifreiem Al_2O_3 ²⁾ chromatographiert.

Mit Benzol-Chloroform-Gemischen wurde nur amorphes, braungelbes Material eluiert (verworfen). Die mit Chloroform in 6 Fraktionen eluierbaren Anteile (730 mg) gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 200 mg Anhydro-hellebrigenin (IV) in farblosen Nadeln vom Smp. $206-209^{\circ}$.

Vier weitere mit reinem Chloroform eluierte Fraktionen (zusammen 500 mg) gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther wenig reines Hellebrigenin (XIII) vom Smp. $236-239^{\circ}$.

Neun weitere mit Chloroform-Methanol (99:1) eluierte Fraktionen (zusammen 4 g) gaben nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 3,1 g reines Hellebrigenin (XIII) vom Smp. $237-240^{\circ}$.

Die Hellebrigeninmutterlaugen wurden acetyliert und das Acetatgemisch chromatographiert. Dabei wurden noch 90 mg analysenreines Anhydro-hellebrigenin-acetat (V) vom Smp. $218-221^{\circ}$ und wenig Hellebrigenin-acetat (XIV) vom Smp. $236-241^{\circ}$ erhalten; die Hauptmenge des Materials blieb amorph.

¹⁾ Herr Dr. Chen wird über seine Resultate an anderer Stelle berichten.

²⁾ J. v. Euw und T. Reichstein, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944).

Hellebrigenin-acetat (XIV).

230 mg Hellebrigenin (XIII) vom Smp. 236—239° wurden in 2 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 1,6 cm³ Essigsäureanhydrid versetzt und 48 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther gab 270 mg Rohprodukt; aus Aceton-Äther 180 mg Nadeln vom Smp. 242—247° (Zers.); $[\alpha]_D^{15} = +33,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7417$ in Chloroform).

7,418 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,25^\circ \pm 0,02^\circ$

3,450 mg Subst. gaben 8,610 mg CO₂ und 2,467 mg H₂O (Schweinchen) (OAB)

5,433 mg Subst. verbr. 1,226 cm³ H₂ (23°; 728 mm) Hydrierung (ETH.)

C₂₆H₃₄O₇ Ber. C 68,09 H 7,47%

(458,53) Gef. „ 68,10 „ 8,00% H₂-Aufnahme 4,07 Mol.

Anhydro-hellebrigenin (IV).

Aus Aceton-Äther farblose Nadeln, Smp. 206—209°; $[\alpha]_D^{20} = +25,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,896$ in Aceton).

8,960 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,23^\circ \pm 0,02^\circ$

3,277 mg Subst. gaben 8,76 mg CO₂ und 2,28 mg H₂O (Schweinchen) (S. W.)

C₂₄H₃₀O₅ (398,48) Ber. C 72,33 H 7,58% Gef. C 72,95 H 7,79%

Das getrocknete Präparat war methoxylfrei.

Anhydro-hellebrigenin-acetat (V).

10 mg Anhydro-hellebrigenin vom Smp. 206—209° wurden in 1 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,6 cm³ Essigsäureanhydrid versetzt und 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 12 mg rohes Acetat, das nach längerem Stehen bei 0° aus Aceton-Äther krystallisierte. Nadeln, Smp. 108—112°; $[\alpha]_D^{18} = +25,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,624$ in Chloroform).

6,25 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,16^\circ \pm 0,03^\circ$

Bei einer zweiten Acetylierung wurden derbe Prismen erhalten; Smp. 218—221°; $[\alpha]_D^{17} = +26,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,956$ in Chloroform).

9,580 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,25^\circ \pm 0,02^\circ$

3,408 mg Subst. gaben 8,87 mg CO₂ und 2,32 mg H₂O (Schweinchen) (S.W.)

5,701 mg Subst. verbr. 1,424 cm³ H₂ (22,9°; 735 mm) Hydrierung (ETH.)

C₂₆H₃₂O₆ Ber. C 70,88 H 7,32%

(440,51) Gef. „ 71,03 „ 7,62% H₂-Aufnahme 4,38 Mol.

Durch Animpfen liess sich die tiefschmelzende Form in die hochschmelzende umwandeln. Das getrocknete Präparat war methoxylfrei.

Hellebrigenin-acetat-säure-methylester (III).

210 mg Hellebrigenin-acetat (XIV) vom Smp. 240—247° wurden in 3 cm³ reinstem, chromsäurebeständigem Eisessig gelöst und innerhalb ½ Stunde mit 2,5 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt. Ein zunächst auftretender, brauner Niederschlag löste sich beim Stehen wieder. Die Mischung wurde noch 4 Stunden bei 18° stehen gelassen, worauf noch eine Spur Chromsäure nachweisbar war. Darauf wurde im Vakuum bei 25° eingedampft. Die übliche Aufarbeitung in Chloroform-Äther und eisgekühlter Sodalösung lieferte 100 mg Neutralteil und 108 mg rohe Säure II, die aus Methanol-Äther krystallisierte, Smp. 230—233°.

100 mg Hellebrigenin-acetat-säure (II) wurden in wenig Aceton gelöst, die Lösung auf -10° abgekühlt, tropfenweise mit einer ätherischen Diazomethanlösung versetzt bis die Lösung eben gelb war, 5 Minuten bei 0° stehen gelassen und im Vakuum eingedampft.

Der Rückstand (100 mg) wurde an 3 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (1:1) eluierten Anteile (78 mg) gaben aus Aceton-Äther 55 mg Krystalle; Smp. 235–241°. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther lieferte Prismen, Smp. 243–245°; $[\alpha]_D^{16} = +52,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,884$ in Chloroform).

8,840 mg Subst. zu 0,9998 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,46^\circ \pm 0,02^\circ$

3,710 mg Subst. gaben 9,854 mg CO_2 und 2,495 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_8$ (488,55) Ber. C 66,10 H 7,81% Gef. C 65,86 H 7,53%

Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : gelb, nach 5 Minuten rosa.

3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-iso-21-norpregnan-19,20-disäure-dimethylester (XV) aus X.

a) Aus Hellebrigenin-acetat-säure-methylester (III).

46 mg Methylester III vom Smp. 236–241° wurden in 3 cm^3 Aceton¹⁾ gelöst, mit 70 mg fein gepulvertem KMnO_4 versetzt und auf der Maschine geschüttelt. Nach einer Stunde war die Lösung entfärbt. Es wurden noch 10 mg KMnO_4 zugefügt und noch 2 Stunden geschüttelt. Nach dieser Zeit war noch ein Überschuss an KMnO_4 vorhanden. Die Mischung wurde im Vakuum bei 25° zum Brei eingedampft, mit 3 cm^3 Wasser versetzt, vom Aceton im Vakuum vollständig befreit, bei 0° mit 2-n. H_2SO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Chloroformlösungen hinterliessen nach dem Eindampfen im Vakuum 45 mg Substanz. Diese wurde in Chloroform-Äther gelöst und mit Sodalösung getrennt. Rohe Säure: 39 mg; Neutralteil: 8 mg. Die rohe Säure wurde mit Diazomethan methyliert und der erhaltene Methylester an 1,2 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (4:1) eluierbaren Anteile lieferten aus Aceton-Äther feine Nadeln, die bei 124–129° schmolzen. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther stieg der Smp. auf 127–129°. Die Krystalle wurden in 1 cm^3 absolutem Pyridin und 0,6 cm^3 Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehen gelassen und das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt an 1 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (19:1) und (9:1) eluierbaren Anteile krystallisierten in Nadeln vom Smp. 152–156° (Erweichen bei 122°). Nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther wurden Nadeln vom Smp. 154–157° erhalten (Erweichen bei 125°, bei 145° war alles wieder durchkrystallisiert); $[\alpha]_D^{17} = +70,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7131$ in Chloroform).

7,132 mg Subst. zu 0,9998 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,505^\circ \pm 0,03^\circ$

3,808 mg Subst. gaben 8,876 mg CO_2 und 2,700 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_8$ (452,52) Ber. C 63,72 H 7,96% Gef. C 63,61 H 7,96%

Das aus Strophanthidin-acetat (IX) erhaltene Präparat XV¹⁾ schmolz bei 158–160°, die Mischprobe bei 156–158° ohne vorheriges Erweichen. Beide Präparate zeigten mit konz. H_2SO_4 dieselben Färbungen: hellbraun, sehr rasch gelb, nach 30 Minuten rosa.

b) Aus Hellebrigenin-acetat (XIV). 500 mg Hellebrigenin-acetat (XIV) vom Smp. 235–238° wurden in 30 cm^3 Aceton¹⁾ gelöst, mit 1,2 g fein gepulvertem KMnO_4 versetzt und 7 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Nach dieser Zeit war die Tüpfelprobe noch violett. Die Mischung wurde wie bei a) weiterverarbeitet. Die Chloroformauszüge hinterliessen nach dem Eindampfen im Vakuum 440 mg amorphe Substanz, die sofort mit Diazomethan methyliert und an 14 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) eluierbaren Anteile (360 mg) lieferten aus Aceton-Äther 230 mg feine Nadeln vom Smp. 109–114°, der sich bei weiterem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther nicht veränderte. Um eventuell vorhandenes Ketolacton XVI zu entfernen, wurde die gesamte Substanz (230 mg) in 50 cm^3 Methanol gelöst, mit einer kalt bereiteten Lösung von 250 mg KHCO_3 in 10 cm^3 Wasser versetzt und 2 Tage bei 18° stehen gelassen. Die Lösung wurde darauf im Vakuum bei 25° vom Methanol befreit und mit

¹⁾ Aceton über KMnO_4 destilliert.

Chloroform ausgeschüttelt. Die wässrige Hydrogencarbonat-Lösung wurde mit H_2SO_4 bis zur kongosauren Reaktion versetzt und ebenfalls mit Chloroform ausgezogen. Es wurden so 207 mg Neutralteil und 9 mg Säure erhalten. Der Neutralteil wurde mit 3 cm^3 absolutem Pyridin und 2,5 cm^3 Acetanhydrid 2 Tage bei 18° stehen gelassen und das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt an 6 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (19:1), (9:1) und (4:1) eluierbaren Anteile (175 mg) gaben aus Aceton-Äther 164 mg feine, farblose Nadeln vom Smp. $149\text{--}153^\circ$ (Sintern bei 121°). Nach weiterem dreimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther schmolz die Substanz bei $157\text{--}159^\circ$; $[\alpha]_D^{18} = +74,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,263$ in Chloroform).

12,650 mg Subst. zu 0,9998 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,945^\circ \pm 0,02^\circ$

3,100 mg Subst. gaben 7,250 mg CO_2 und 2,260 mg H_2O (OAB)

5,135 mg Subst. verbr. 6,780 cm^3 1/50-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_8$ Ber. C 63,72 H 7,96 $-\text{OCH}_3$ 12,73%
(488,55) Gef. „ 63,83 „ 8,16 „ 13,66%

Die Mischprobe mit XV vom Smp. $158\text{--}160^\circ$, erhalten durch oxydativen Abbau von Strophanthidin-acetat¹⁾, schmolz bei $156\text{--}159^\circ$. Beide Substanzen zeigten mit konz. H_2SO_4 die oben beschriebenen Färbungen.

Hellebrigenol-monoacetat-(3) (XVII).

280 mg Hellebrigenin-acetat (XIV) vom Smp. $235\text{--}238^\circ$ wurden zur Entfernung von Krystallwasser in absolutem Isopropylalkohol gelöst, mit etwas absolutem Toluol versetzt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 60 cm^3 absolutem Isopropylalkohol gelöst, mit 5 g Aluminium-isopropylat versetzt und unter H_2O -Ausschluss 8 Stunden langsam destilliert, so dass pro Minute ca. 2 Tropfen übergingen. Durch Zutropfen von absolutem Isopropylalkohol wurde das Volumen im Destillierkolben konstant gehalten. Am Schluss der Reaktion wurde die Temperatur etwas erhöht und die Reaktionslösung auf ca. 30 cm^3 eingedampft. Die ersten Destillate gaben eine positive *Legal*-Reaktion, die im Laufe der Zeit schwächer und nach 8 Stunden völlig negativ wurde. Der Kolbeninhalt wurde im Vakuum auf ca. 5 cm^3 eingeengt, abgekühlt, mit 30 cm^3 einer gesättigten *Seignettesalzlösung* versetzt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit 2-n. Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Chloroformauszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 255 mg neutrales Rohprodukt. Dieses wurde in 4 cm^3 Methanol gelöst, mit 0,4 cm^3 Eisessig und 0,22 g *Girard-Reagens T*¹⁾ versetzt und 3 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde auf -10° abgekühlt, mit einer Mischung von 3,5 cm^3 2-n. Sodalösung und 25 cm^3 Eiswasser versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Erhalten wurden 253 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 180 mg Krystalle vom Smp. $142\text{--}146^\circ$. Zur Analyse wurde noch 2mal aus Aceton-Äther umkrystallisiert. Farblose Körner, Smp. $146\text{--}148^\circ$ (Aufschäumen) oder Prismen, Smp. $257\text{--}260^\circ$. Die tiefschmelzenden Körner liessen sich durch Impfen in die hochschmelzenden Prismen umwandeln; $[\alpha]_D^{17} = +8,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,858$ in Aceton).

8,590 mg Subst. zu 0,9998 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

4,222 mg Subst. gaben 10,454 mg CO_2 und 2,920 mg H_2O (*S. W.*)

$\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_7$ (460,55) Ber. C 67,80 H 7,87% Gef. C 67,57 H 7,47%

Färbung mit konz. H_2SO_4 : grau-braun, nach 2 Minuten braun, nach 1 Stunde braunrot. Absorptions-Spektrum und biologische Wirksamkeit siehe theoretischer Teil.

Hellebrigenol-diacetat (XVIII).

140 mg Hellebrigenol-monoacetat (XVII) vom Smp. $142\text{--}146^\circ$ wurden in 3 cm^3 absolutem Pyridin gelöst, mit 2,5 cm^3 reinstem Essigsäureanhydrid versetzt und 2 Tage bei 18° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 156 mg amorphes Rohprodukt, das an 4 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform (3:1) und (1:1) eluier-

¹⁾ A. Girard und G. Sandulesco, Helv. **19**, 1095 (1936).

baren Anteile lieferten aus Aceton-Äther 95 mg farblose, zu Drusen vereinigte feine Nadeln, Smp. 126—129°; $[\alpha]_D^{19} = +36,30 \pm 3^0$ ($c = 0,826$ in Chloroform).

8,270 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,30^0 \pm 0,03^0$

3,548 mg Subst. gaben 8,610 mg CO₂ und 2,459 mg H₂O (ETH.)

C₂₈H₃₈O₈ (502,58) Ber. C 66,91 H 7,62% Gef. C 66,23 H 7,76%

Färbung mit konz. H₂SO₄ wie bei Hellebrigenol-monoacetat.

3β, 5, 14, 19-Tetraoxy-14-iso-ätio-cholansäure (XXII)
und Methylester XXIII aus Hellebrigenol-diacetat (XVIII).

80 mg Hellebrigenol-diacetat (XVIII) vom Smp. 124—127° wurden in 8 cm³ Aceton¹⁾ gelöst, mit 160 mg fein gepulvertem KMnO₄ versetzt und 8 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Aufarbeitung wie bei XV beschrieben gab 10 mg Neutralteil und 65 mg amorphe Säure XXI. Letztere wurde in 1 cm³ Methanol gelöst, mit 4 cm³ 3-proz. methanolischer KOH 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von 1 cm³ Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, konz. HCl bis zur eben kongosauren Reaktion zugegeben und 4mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen Lösungen gaben nach Trocknen und Eindampfen 42 mg rohe Säure XXII, die aus Aceton-Äther krystallisierte, Smp. 225—227°; $[\alpha]_D^{20} = +38,1^0 \pm 3^0$ ($c = 0,656$ in Aceton).

6,57 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,25^0 \pm 0,03^0$

Ehrenstein und *Johnson*^{m)} fanden für die aus Strophanthidol (XIX) bereitete Säure XXII Smp. 217°; $[\alpha]_D^{23,5} = +38,9^0$ (in Aceton). Die Mischung mit XXII vom Smp. 225—227°, erhalten durch Ozon-Abbau von Strophanthidol-diacetat (XX) (siehe unten) schmolz gleich.

Methylester XXIII. 25 mg Säure XXII aus XVIII vom Smp. 225—227° wurden bei 0° mit Diazomethan methyliert. Der Ester krystallisierte aus Aceton-Petroläther auch nach längerem Stehen bei 0° zunächst nicht. Beim Animpfen mit einer authentischen Probe³⁾ wurden jedoch sofort farblose Platten erhalten, Smp. 167—169°; $[\alpha]_D^{18} = +54,4^0 \pm 3^0$ ($c = 0,754$ in Chloroform).

7,550 mg Subst. zu 0,9998 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,41^0 \pm 0,03^0$

Zur Analyse wurde 10 Stunden im Hochvakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet (Schweinechen).

3,068 mg Subst. gaben 7,405 mg CO₂ und 2,450 mg H₂O (ETH.)

C₂₁H₃₄O₆ (382,48) Ber. C 65,92 H 8,96% Gef. C 65,87 H 8,94%

Die Mischung mit authentischem Material²⁾ vom Smp. 168—169° gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

3β, 5, 14, 19-Tetraoxy-14-iso-ätiocholansäure (XXII) und
Methylester XXIII aus Strophanthidol-diacetat (XX) mit Ozon.

200 mg Strophanthidol-diacetat (XX) vom Smp. 190—192° wurden in 10 cm³ reinem Äthylacetat gelöst und bei –80° während 5 Minuten mit trockenem ozonhaltigem Sauerstoff behandelt. Die tief blauviolette Lösung blieb 15 Minuten bei –80° stehen. Nach Eindampfen im Vakuum bei 0° wurde in 3 cm³ Eisessig aufgenommen und mit Zinkstaub geschüttelt, bis Kaliumjodidstärkepapier nicht mehr gebläut wurde (ca. 3 Stunden). Übliche Aufarbeitung der filtrierten Lösung mit Chloroform gab 230 mg Neutralprodukt (rohen Glyoxylsäureester). Dieses wurde in 10 cm³ Methanol gelöst, mit einer kalt bereiteten Lösung von 230 mg KHCO₃ in 5 cm³ Wasser versetzt und 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Einengen im Vakuum auf 4 cm³, Ausschütteln mit Chloroform, Waschen mit wenig Wasser, Trocknen und Eindampfen im Vakuum gab 175 mg rohes Ketol. Dieses wurde in 3 cm³ Dioxan gelöst, mit der Lösung von 260 mg HJO₄ in 0,8 cm³ H₂O versetzt

1) Über KMnO₄ destilliert.

2) Ich danke Herrn Dr. M. Ehrenstein für die Überlassung einer Probe Methylester.

und 3 Stunden bei 18° stehen gelassen. Eindampfen im Vakuum bei 20°, Zusatz von Wasser und Ausschütteln mit Chloroform. Chloroformlösungen bei 0° mehrmals mit kleinen Portionen 2-n. Sodalösung ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Diese Behandlung gab nur Spuren neutraler Stoffe. Sodauszüge bei 0° mit HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzen und mit Chloroform ausschütteln gab 154 mg rohe Säure. Diese wurde in 1 cm³ Methanol gelöst, mit 5 cm³ 3-proz. methanolischer KOH 1 Stunde unter Rückfluss erhitzt. Aufarbeitung wie oben gab 102 mg rohe Säure. Aus Aceton-Äther 80 mg Krystalle, Smp. 225—227°.

Methylester XXIII. Methylieren bei 0° mit Diazomethan. Der Ester krystallisierte aus Aceton-Petroläther auch nach längerem Stehen nicht. Erst nach dem Animpfen mit einer authentischen Probe wurden sofort flache Platten erhalten, Smp. 167—169°.

Zusammenfassung.

1. Die früher als Hellebrigenin-A und B bezeichneten Substanzen stellen nur Krystallmodifikationen ein und desselben Stoffes dar, der nun einfach Hellebrigenin genannt wird. Aus diesem wurde ein krystallisiertes Acetat gewonnen. Hellebrigenin (und Hellebrigenin-acetat) war an der Katze noch stärker wirksam als Desgluco-hellebrin.

2. Bei der *Mannich*-Spaltung von Desgluco-hellebrin wurde neben Hellebrigenin noch etwas Monoanhydro-hellebrigenin isoliert, das biologisch inaktiv war. Es konnte als Acetat charakterisiert werden, welches in zwei Krystallmodifikationen erhalten wurde.

3. Aus Hellebrigenin-acetat wurde durch Reduktion nach *Meerwein-Ponndorf* krystallisiertes Hellebrigenol-monoacetat erhalten. Acetylierung lieferte das krystallisierte Hellebrigenol-diacetat. Hellebrigenol-monoacetat zeigte an der Katze etwa dieselbe Wirksamkeit wie Hellebrigenin.

4. Hellebrigenin-acetat wurde durch Oxydation mit CrO₃ in Hellebrigenin-acetat-säure und ihren Methylester übergeführt. Beide Stoffe krystallisierten.

5. Durch oxydativen Abbau von Hellebrigenin-acetat wurde 3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-iso-21-norpregnan-19,20-disäure-dimethylester erhalten, der sich mit dem früher beschriebenen Präparat aus Strophanthidin als identisch erwies. In gleicher Weise wurde aus Hellebrigenol-diacetat 3 β ,5,14,19-Tetraoxy-14-iso-ätiocholansäure und ihr Methylester erhalten, die sich mit den aus Strophanthidol erhaltenen Präparaten als identisch erwiesen. Hellebrigenin ist damit konstitutionell und konfiguratив eindeutig mit Strophanthidin und Strophanthidol verknüpft worden. Hellebrigenin und Strophanthidin unterscheiden sich nur im Bau des Lactonringes.

Die Analysen wurden in folgenden mikroanalytischen Laboratorien ausgeführt: Organisch-chemische Anstalt, Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB), Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) (ETH.), bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberg*, Graz (S. W.). Das Ultraviolettpektrum wurde in der ETH. aufgenommen (*Hilger* Quarz Spectrograph).