Ueber ein in der Adonis aestivalis L. enthaltenes Glycosid.

Von N. Kromer,

Privatdozent der Pharmacie an der Universität Jurjew (Dorpat).

(Eingegangen den 17. V. 1896).

Nachdem J. Tahara[1]) in der *Adonis amurensis* ein Glycosid nachgewiesen hatte, das seinen pharmakologischen Eigenschaften gemäfs sich vom Adonidin, welches Cervello[2]) aus der *Adonis vernalis* isolierte, unterscheiden sollte, lag der Gedanke nahe, die *Adonis aestivalis*, welche sich häufig in neueren Gärten als Zierpflanze vorfindet, einer Untersuchung zu unterziehen.

Der gegenwärtig herrschenden Auschauung nach sollen alle Arten der Adonis das Glycosid Adonidin enthalten, welches sich, hinsichtlich der Wirkung, den Digitalisglycosiden analog verhalten soll. Eine Ausnahme hierin soll die *Adonis amurensis* machen, welche, wie die Untersuchung I. Inoko's[3]), die mit dem Präparate Tahara's ausgeführt wurde, ergab, dafs hier ein Glycosid vorliege, das qualitativ wie Adonidin wirke, quantitativ aber in der Wirkung von selbigem erheblich variiere. Auf Grund dieses Befundes legte Tahara seinem Körper die Bezeichnung „Adonin" bei.

Dafs die Anwendung der *Adonis aestivalis* nicht neu ist, beweist der Umstand, dafs einstmals *Flores* und *Semina Adonidis seu Hellebori Hippocratis*[4]) benutzt wurden.

Die deutsche Bezeichnung für diese Pflanze ist sehr mannigfach, so z. B. Adonis-, Feuer-, Acker-, Feld-, Marien-Röslein, Sommerteufelsauge, Blutauge. Letztere Benennung ist der Färbung der Blumenblätter entlehnt.

Dem Schicksal, in Vergessenheit zu geraten, welchem so manches vortreffliche Arzneimittel des Pflanzenreiches anheim gefallen ist, ist die *Adonis aestivalis* nicht entgangen. Der Grund dafür möge

[1]) Berichte der deutschen chem. Gesellschaft XXIV 3. p. 2579.
[2]) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie Bd. 15. 1882 p. 235.
[3]) Berichte der deutschen chem. Gesellschaft XXIV 3. po. 2581.
[4]) Geifsler & Möller Realencyclopädie der gesamten Pharmacie 1886 p. 136 Bd. I.

einerseits darin zu suchen sein, dafs die Digitalis vorgezogen wurde, andererseits aber möge auch die irrationelle Präperation der Droge ein unzuverlässiges Arzneimittel geliefert haben.

Neuerdings scheint wiederum die Pflanze und ein aus derselben bereiteter alkoholischer Auszug in Rufsland medizinische Anwendung zu finden, und diesem Umstande ist es auch zuzuschreiben, dafs ich die chemische Untersuchung derselben auszuführen beschlofs.

Das Material, welches mir aus der hiesigen Kunst- und Handelsgärtnerei von Joh. Daugull liebenswürdigst zur Verfügung gestellt wurde, bestand aus in halbem Entwickelungsstadium, d. h. vor der Blüte, befindlichen Pflanzen. Nach dem üblichen Trocknen wurden die Pflanzen in fein zerschnittener Form der weiteren Verarbeitung, welche die Isolierung des wirksamen Bestandteiles im Auge hatte, unterworfen.

Die Vorprüfungen hier nicht erwähnend, sei nur bemerkt, dafs zur Ausscheidung des wirksamen Stoffes nur diejenigen Methoden in Anwendung gelangen konnten, welche eine Behandlung mit tiefergreifenden Agentien ausschliefsen.

Deshalb habe ich die Entfernung der Gerbstoffe und Gerbsäure durch Bleiacetat, wie sie bei der Darstellung von Glycosiden aus Pflanzenauszügen allgemein üblich ist, nach Möglichkeit vermieden.

Die Methode von Cervello, welche von ihm bei der Darstellung des Adonidins aus *Adonis vernalis* Anwendung fand und darauf beruht, dafs das Adonidin aus dem vorher durch basisches Bleiacetat von Gerbstoffen befreiten Auszug durch Gallusgerbsäure gefällt und aus der so gewonnenen Gerbsäureverbindung durch Zinkoxyd in Freiheit gesetzt wurde, liefs nicht nur Verluste an Ausbeute, sondern auch Zersetzungsprodukte des Glycosides, die durch das öftere Eindampfen entstehen könnten, befürchten.

Die Methode, welche von Tahara bei der Gewinnung des Adonins aus *Adonis amurensis* angewandt wurde, und ein Ausschütteln mit Chloroform aus stark alkalischer Flüssigkeit vorschreibt, konnte ebenfalls nicht in der mitgeteilten Form angewandt werden, weil zuerst konstatiert werden mufste, ob nicht Alkalien, wenn sie auch das wirksame Glycosid unverändert lassen, so doch Zersetzungen anderer in Pflanzenauszügen vorhandener Stoffe hervorbringen

können, deren Produkte der Reinigung des Glycosides grofse Schwierigkeiten in den Weg setzen.

6 Kilo der lufttrockenen Pflanze wurden viermal hintereinander mit 96° Alkohol bei einer Temperatur von ca. 60° C. extrahiert und die nach dem Abdestillieren des Alkohols bei vermindertem Druck erhaltenen grün gefärbten Rückstände mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers gemischt. Dieses Gemenge, welches schwach sauer reagierte, wurde nach einander mit Petroläther (Siedepunkt 60° C.), als dieser nichts mehr aufnahm, mit Aethyläther und schliefslich mit Chloroform geschüttelt.

Der Petrolätherauszug, welcher der Hauptmenge nach aus Fetten, die durch Chlorophyll grün gefärbt waren, bestand, hatte keine Spur eines bitteren Geschmackes. Der Rückstand der Aetherlösung war gering, ebenfalls grün gefärbt und schmeckte äufserst schwach bitter, während der durch Verdunsten des Chloroforms erhaltene Anteil von gelbbrauner Farbe war und auf die Zunge gebracht einen andauernd bitteren Geschmack erkennen liefs.

Die Fällung des wirksamen Bestandteiles aus wässeriger Lösung durch Gerbsäure und der bittere Geschmack desselben sind, wie es vorausgeschickt sein möge, die Hauptmerkmale, welche auf das Vorhandensein des wirksamen Stoffes, der glycosidischer Natur ist, hinwirken. Dieser beiden Merkmale bediente ich mich, um die An- oder Abwesenheit des Körpers in den betreffenden Lösungsmitteln darzuthun.

Der Petroläther- wie Aetherauszug gaben, nachdem dieselben mit Wasser geschüttelt worden, mit Gerbsäure keine Fällung, während im letztgenannten Lösungsmittel durch den Geschmack noch Spuren zu erkennen waren.

Durch Zusatz von doppeltkohlensaurem Natron zu dem mit Chloroform ausgeschüttelten Auszuge trat eine intensive Rotfärbung auf und aus der Flüssigkeit konnte durch Chloroform neben unbedeutenden Mengen Glycosides eine kleine Quantität eines roten Stoffes isoliert werden, der, seinen Eigenschaften nach zu urteilen, den Gerbstoffen angehörte.

Aus dem wässerigen Rückstand wurden durch starken Alkohol anorganische Salze gefällt und es hinterblieb nach dem Verdunsten

des Lösungsmittels eine sirupöse, an Kohlenhydraten reiche Flüssigkeit.

Für die Isolierung des Glycosides kam nur der Rückstand der Chloroformlösung in Betracht und um aus selbigem die letzten Mengen vorhandenen Chlorophylls zu entfernen, wurde eine nochmalige Behandlung mit Petroläther unternommen, alsdann in Alkohol gelöst und mit absolutem Aether fraktioniert gefällt.

Zur Erlangung der Fällung ist die Quantität des zum Lösen bestimmten Alkohols möglichst gering zu bemessen, weil kleine Quantitäten desselben, auch bei Gegenwart von viel Aether, erhebliche Mengen von Glycosid in Lösung zu halten vermögen. Die restierende alkoholisch-ätherische Lösung hinterliefs beim Verdunsten des Lösungsmittels einen nicht unerheblichen Rückstand, aus welchem durch wiederholte Digestion mit absolutem Aether neue Mengen des Glycosides erhalten wurden. Im Ganzen wurden durch Fällung mit Aether sechs Fraktionen erhalten, die untereinander in der Färbung Verschiedenheit zeigten. Die Fraktionen 1 und 2 waren dunkelbraun gefärbt, sehr hygroskopisch und enthielten kein Glycosid; Fraktion 3 und 4 von derselben Farbe enthielten neben Gerbstoffen, die sich in Wasser schwer lösten, wenig Glycosid, während Fraktion 5 und 6 sich in Wasser lösten, aber noch grün gefärbt waren.

Zur weiteren Reinigung der Fraktionen 5 und 6 wurden dieselben mit ausgeglühtem Quarzsand gemischt und mit Aether im Soxhlet'schen Extraktionsapparat 12 Stunden lang extrahiert. Dem rückständigen Sand wurde das Glycosid durch Alkohol entzogen und letzteres Lösungsmittel bei möglichst niederer Temperatur verdunstet. Das erhaltene Glycosid war amorph und neigte weder bei längerem Stehen seiner konzentrierten Lösung in Alkohol, noch beim Versetzen derselben mit Aether zur Krystallisation. In dünner Schicht war es vollkommen farblos, in dickerer dunkelgelb gefärbt und stellte nach dem Verreiben ein gelbes Pulver dar, das sich in Wasser aufserordentlich leicht löste und einen stark bitteren Geschmack besafs.

Um das Glycosid aus denjenigen Fraktionen zu gewinnen, welche mit Gerbstoff verunreinigt waren, wurden die Fällungen zuerst mit Wasser behandelt und filtriert. Das erhaltene Filtrat lieferte mit Gerbsäure versetzt eine weifse voluminöse Fällung der

Gerbsäureverbindung des Glycosides, welche mit Zinkoxyd unter Hinzufügung von Alkohol eingetrocknet wurde.

Der trockene Rückstand lieferte, nachdem derselbe ebenfalls im Soxhlet'schen Extraktionsapparat von in Aether löslichen Bestandteilen befreit war, nach dem Verdunsten des Alkohols das Glycosid.

Die Gesamtausbeute an Glycosid betrug aus 6 Kilogramm in Arbeit genommenen Rohmaterials 13 g = 0,216 Proz.

Das Glycosid ist aufser in Wasser, leicht in Chloroform und Alkohol löslich, in Aether und Petroläther aber fast unlöslich. Die wässerige Lösung desselben wird durch Gerbsäure gefällt, während Pikrinsäure und Mayer's Reagens keine Fällungen hervorbrachten: im Gegensatz zu Tahara, der für das Adonin eine Fällbarkeit durch Pikrinsäure und Mayer's Reagens angiebt.

Froehde's Reagens färbt das Glycorid braun; Liebermann's Reagens rotviolett; Vanadinschwefelsäure braun; konzentrierte Schwefelsäure, der eine Spur Eisenchlorid zugefügt worden, grün, rasch blau, dann braun werdend.

Konzentrierte Salpetersäure färbt rot, dann verblassend. In konzentrierter Essigsäure gelöst und mit einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure geschichtet, entstand eine rote Zone; beim Umschütteln färbte sich die Mischung orangerot und wurde schliefslich gelb.

Das Adonin färbt sich nach Tahara mit konzentrierter Salpetersäure indigoblau und läfst ebenfalls in essigsaurer Lösung mit konzentrierter Salpetersäure versetzt dieselbe Färbung erkennen.

Die kleinste Menge von Mineralsäuren zersetzt das Glycosid in einen Körper, der Fehling'sche Lösung reduziert, und in eine sich in farblosen Flocken ausscheidende Substanz, die beim Erhitzen zu harzähnlichen Klumpen zusammenballt. Das Zersetzungsprodukt schmeckte etwas bitter; es war ebenfalls amorph, in Wasser fast unlöslich, in Aether aber leicht löslich.

Das Glycosid ist stickstofffrei.

Die Elementaranalysen des nach verschiedenen Methoden abgeschiedenen Glycosides gaben folgende Werte:

I. 0.1585 g gaben 0.1128 g H_2O und 0.3495 g CO_2
7.90 Proz. H — 60.13 Proz C.

II. 0.1288 g gaben 0,093 g H_2O und 0.283 g CO_2
8.02 Proz. H — 59.91 Proz. C.
III. 0.3005 g gaben 0.2179 g H_2O und 0.6656 g CO_2
8.05 Proz. H — 60.40 Proz. C.

Die Substanz zur Analyse I und II war durch Fällung aus alkoholischer Lösung durch Aether gewonnen und bei 100° C getrocknet worden, während zur Analyse III ein Glycosid zur Verwendung kam, welches aus der Gerbsäureverbindung isoliert worden war. Wie es ersichtlich ist, stimmen die erhaltenen Werte untereinander gut überein, sodafs dieser Umstand auch als Kriterium für die Einheitlichkeit des Glycosides gelten könnte. Als einfachste empirische Formel, die für das Glycosid aus den Daten der Elementaranalysen berechnet ist, könnte die Formel $C_{25}H_{40}O_{10}$ gelten.

Die Formel $C_{25}H_{40}O_{10}$ verlangt:		gefunden:
C. 60.00 Proz.	C =	60.13 — 59.91 — 60.40 Proz.
H. 8.00 „	H =	7.90 — 8.02 — 8.05 „
O. 32.00 „		

Tahara erhielt bei der Analyse des Adonin's aus *Adonis amurensis* für den Kohlenstoff Zahlen, die von 60,29 bis 60,94 und die für den Wasserstoff von 8.45 bis 8.76 schwankten. Aus diesen berechnete er die Formel $C_{24}H_{40}O_9$, welche 61.02 Proz. C und 8.48 Proz. H verlangt.

Um das durch Säure aus dem Glycoside gewonnene Spaltungsprodukt annähernd quantitativ zu bestimmen, wurden 0,6195 g Glycosid in Wasser, welches $^1/_2$ Proz. Salzsäure enthielt, gelöst und darauf $^1/_2$ Stunde lang auf dem Wasserbade erhitzt. Das harzartig abgeschiedene Spaltungsprodukt wurde der Flüssigkeit durch Aether entzogen und nach dem Verdunsten derselben hinterblieb ein Rückstand, der 0,248 g wog = 40.6 Proz.

Tahara erhielt bei der Spaltung des Adonins 38.46 Proz. Spaltungsprodukt. Die wässerige, Salzsäure enthaltende, Flüssigkeit reduzierte Fehling'sche Lösung und gab, mit essigsaurem Phenylhydrazin erwärmt, ein Osazon, das der Krystallform nach zu urteilen mit dem Glycosazon identisch sein könnte.

Der seltenen Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Dr. R. Kobert verdanke ich eine vergleichende pharmakologische Untersuchung des von mir isolierten Glycosides mit dem von Merck-Darmstadt bezogenen Adonidin.

Ich lasse das Urteil des Herrn Prof. Dr. R. Kobert wörtlich folgen: „Sowohl am ganzen Frosche mit freigelegtem Herzen als am Williams'schen Apparate, wo nur das Herz mit 50 ccm Flüssigkeit (verdünntes Blut) benutzt wird, stellte sich eine auffallende Verschiedenheit des Glycosides aus *Adonis vernalis* und *aestivalis* heraus. Von ersterem genügten 0.04 Milligramm subkutan eingespritzt um am ganzen Frosche den typischen Herzstillstand in Systole hervorzurufen und $^3/_4$ Stunden später den Frosch (Temporaria) zu töten. Von letzterem ist die 200fache Menge dazu noch nicht grofs genug. Am Williams'schen Apparat ergab sich ebenfalls eine mindestens 200fache Verschiedenheit der Wirkungsintensität. Von einer Identität beider Stoffe kann daher nicht die Rede sein, obwohl qualitativ die Wirkung dieselbe ist." —

Die prozentische Zusammensetzung, welche von mir für dieses Glycosid erhalten wurde, sowie die pharmakologischen Eigentümlichkeiten desselben legen den Gedanken an eine Identität mit dem von Tahara aus der *Adonis amurensis* isolierten „Adonin" nahe.

Daran dafs ich dieselben gegenwärtig nicht als identisch erkläre, hindert mich das verschiedene Verhalten des von mir isolierten Glycosides Salpetersäure, Salpeteressigsäure und Fällungsmitteln gegenüber.

Wünschenswert wäre es, noch den Gehalt an Glycosid in verschiedenen Wachstumsperioden der Pflanze zu ermitteln, wobei als Hilfsmittel zu derartigen Bestimmungen die Fällbarkeit desselben durch Gerbsäure gute Dienste leisten könnte.

Dafs diese Substanz eine therapeutische Verwendung finden könnte, steht wohl aufser Frage, und es wäre zu wünschen, wenn Versuche mit derselben am Krankenbette angestellt werden würden.