

164. Papierchromatographische Untersuchung der Cardenolide von 8 *Erysimum*-Arten und zwei Vertretern verwandter Gattungen

Glykoside und Aglykone, 218. Mitteilung¹⁾

von **Z. Kowalewski**

(4. VI. 60)

JARETZKY & WILCKE²⁾ haben die Familie der *Cruciferen* systematisch auf das Vorhandensein digitalisartig wirkender Stoffe hin untersucht. 154 Arten aus 51 Gattungen wurden biologisch geprüft. Als wirksam erwiesen sich alle 35 geprüften *Erysimum*-, 7 *Cheiranthus*- und 4 *Sisymbrium*-Arten. Alle Vertreter der weiteren 48 Gattungen gaben negative Resultate. Soweit neue Untersuchungen vorliegen³⁾, haben sie die Ergebnisse weitgehend bestätigt. Als wirksam sind dabei auch Vertreter der Gattung *Syrenia* befunden worden, die mit *Erysimum* nahe verwandt ist. Aus Vertretern der Gattungen *Cheiranthus*, *Erysimum* und *Syrenia* sind in den letzten Jahren eine Reihe krist. Cardenolide isoliert worden³⁾. Am reichsten waren stets die Samen.

Cardenolide lassen sich mit relativ spezifischen Reaktionen⁶⁾ quantitativ bestimmen und in Papierchromatogrammen nachweisen. Im folgenden wird über die papierchromatographische Prüfung von 8 *Erysimum*-Arten sowie 2 Vertretern nahe verwandter Gattungen berichtet.

*Beschaffung des Ausgangsmaterials und botanische Angaben*⁹⁾. Die Samen stammen von Pflanzen, die im Jahre 1958 unter genau gleichen Bedingungen kultiviert wurden¹⁰⁾. Die Herkunft des ersten Samenmaterials ist in Tab. 1 angegeben. Es handelt sich durchwegs um 1–2jährige Pflanzen. Sie werden im folgenden kurz besprochen mit Angabe des Hauptverbreitungsgebietes¹¹⁾. Die gewählte Reihenfolge entspricht

¹⁾ 217. Mitteilung: Z. KOWALEWSKI, O. SCHINDLER, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv. 43*, 1280 (1960).

²⁾ a) R. JARETZKY & M. WILCKE, *Arch. Pharmaz.* 270, 81 (1932); b) MARGARETA WILCKE, Diss. Kiel 1931.

³⁾ Vg. die Literaturangaben bei ¹⁾, ⁴⁾, ⁵⁾ und frühere Angaben daselbst.

⁴⁾ W. NAGATA, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Festschrift ARTHUR STOLL*, p. 715 (Basel 1957); *Helv. 40*, 41 (1957).

⁵⁾ Z. KOWALEWSKI, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv. 43*, 957 (1960).

⁶⁾ Über quantitative chemische Bestimmungsmethoden vgl. A. STOLL & E. JUCKER in K. PAECH & M. V. TRACEY, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955, III S. 141, insbes. S. 225 ff. Besonders bequem für den Nachweis des Butenolid-Ringes im Papierchromatogramm sind die Reaktionen nach RAYMOND⁷⁾ oder nach KEDDE⁸⁾. Empfindlichkeit ca. 0,01 mg, manchmal besser.

⁷⁾ W. D. RAYMOND, *Analyst* 63, 478 (1938).

⁸⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946; Ausführungsform nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).

⁹⁾ Wir danken Herrn Dr. H. P. FUCHS, Basel, auch hier für seine Angaben zur Nomenklatur, systematischen Stellung und Verbreitung der 10 genannten Pflanzen.

¹⁰⁾ Die Kultur erfolgte im Botanischen Garten Państwowy, Instytut Naukowy Lecznicych Surowców Roślinnych in Poznań (Polen) unter der Leitung von Magister J. KOZŁOWSKI.

¹¹⁾ Dieser lässt sich nicht immer genau angeben, weil die Abgrenzung der einzelnen Arten teilweise umstritten ist.

der heute als richtig angenommenen Stellung im natürlichen System¹²). Von den ungültigen Synonyma werden höchstens die wichtigsten in Klammern angegeben.

1. *Erysimum odoratum* EHRH. (= *E. pannonicum* CRANTZ). Donaugebiet (Bulgarien, Rumänien, Jugoslawien, Ungarn und südl. Österreich) nach Osten ausstrahlend bis zum unteren Don und zur Wolga (adventiv in Westsibirien), nach Norden: Tschechoslowakei, Süd-Polen, Nordböhmen, Mittel- und Süd-Deutschland, nach Westen: Norditalien, Frankreich und Spanien (in der Schweiz höchstens adventiv).

Tab. 1. Menge der untersuchten Samen sowie Herkunft der zur Kultur¹⁰⁾ verwendeten Samenproben

Species	Verfügbare Samenmenge in g	Herkunft der zur Kultur verwendeten Samenprobe	Fruchtreife im 1. oder 2. Jahr
1a) <i>E. odoratum</i> EHRH.	70	Bot. Garten Bukarest	2
1b) <i>E. odoratum</i> EHRH.	25	Bot. Garten Besançon ¹³⁾	2
2) <i>E. Witmannii</i> ZAW.	100	von Wildpflanzen in Pienyny (Karpathen) gesammelt	2
3) <i>E. hieraciifolium</i> L.	130	Bot. Garten Poznań	2
4) <i>E. pulchellum</i> (WILLD.) J. GAY	15	Bot. Garten Rom	2
5) <i>E. cheiranthoides</i> L.	80	Bot. Garten Dijon	2
6) <i>E. Perofskianum</i> a) ¹⁴⁾ FISCH. et MEY. b) ¹⁴⁾	20 150	Bot. Garten Berlin-Dahlem	1 2
7) <i>E. repandum</i> L.	90	Bot. Garten Lubliana	2
8) <i>E. diffusum</i> EHRH.	25	Bot. Garten Brünn ¹⁵⁾	2
9) <i>Acachmena cuspidata</i> (MARSCH. v. BIEB.) H. P. FUCHS	60	Bot. Garten Montpellier ¹⁶⁾	2
10) <i>Conringia orientalis</i> (L.) DUMORTIER	30	Bot. Garten Lyon ¹⁷⁾	2

2. *Erysimum Witmannii* ZAWADSKI. Endemisch im Karpathenbogen von den Beskiden (Hohe Tatra) bis in die Transsilvanischen Alpen (900–1500 m; Polen, Tschechoslowakei, Ukraine, Rumänien).

3. *Erysimum hieraciifolium* L. Die Abgrenzung dieser Art ist umstritten. Die im folgenden angegebene Verbreitung bezieht sich auf den Komplex, der auch als *E. strictum* GAERTNER, MEYER & SCHERBIUS bezeichnet wurde, und der am ehesten dem *E. hieraciifolium* L. (*respond.* JUSLENIUS) im eingeschränkten Sinne entspricht. Von Zentral- und Nord-Europa (Deutschland, Tschechoslowakei, Polen, Dänemark, Schweden, Norwegen) bis Island durch die bewaldeten Teile des Europäischen Russland bis in den Vorkaukasus, durch Österreich, Ungarn, Jugoslawien, Rumänien, Bulgarien, durch die Schweiz nach Norditalien, Ostfrankreich bis Belgien. Die Angaben im Himalaya, der Mongolei, Kamtchatka, Zentralsibirien etc. beziehen sich auf die nahe verwandte Art *E. Marshallianum* (ANDRZ.) MARSCH. v. BIEB.

¹²⁾ Bei den Cardenolid-führenden Gattungen entspricht dies der Reihenfolge *Cheiranthus-Erysimum-Acachmena-Syrenia*... *Conringia*.

¹³⁾ Erhalten unter der Bezeichnung *E. pannonicum* CRANTZ.

¹⁴⁾ Wir erhielten a) als einjährige und b) als zweijährige Varietät. Ob es sich tatsächlich um verschiedene Rassen handelt, oder ob für die Fruchtreife nur die Zeit der Aussaat massgebend ist, vermögen wir nicht sicher zu sagen.

¹⁵⁾ Erhalten unter der Bezeichnung *E. canescens* ROTH.

¹⁶⁾ Erhalten unter der Bezeichnung *E. cuspidatum* MARSCH. v. BIEB.

¹⁷⁾ Erhalten unter der Bezeichnung *E. orientale* (L.) MILLER.

4. *Erysimum pulchellum* (WILLDENOW) J. GAY. Von Kleinasien nördlich bis zum westlichen Vorkaukasus (Georgien), östlich durch Armenien bis nach Kurdistan.

5. *Erysimum cheiranthoides* L. Circumpolargebiet (bis zum nördlichen Polarkreis), vom Fernen Osten bis Skandinavien gegen Süden ausstrahlend, in Europa-Polen, Tschechoslowakei, Balkan (ohne Griechenland), Deutschland, Schweiz, Norditalien, Holland, Belgien, Frankreich bis in die Pyrenäen. Dem Mittelmeergebiet fehlend.

Chromatogramme

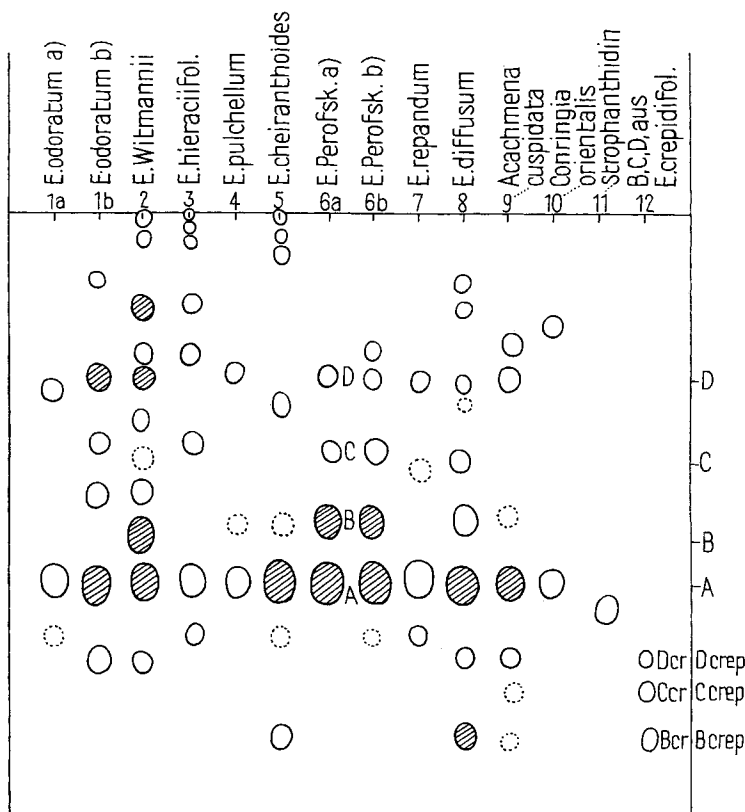


Fig. 1

Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd, $3\frac{1}{2}$ Std.
Chf-Extr. aus fermentierten Proben

6. *Erysimum perfoskianum* F. E. L. FISCHER & C. A. MEYER, vgl. frühere Angaben^{1) 5)}.

7. *Erysimum repandum* L. Schwarzmeerbecken, nach Osten bis Kashmir, nach Süden über Georgien, Armenien nach Kurdistan und ins westliche Kleinasien, nach Westen durch Bulgarien, Rumänien, Westukraine, Ostpolen in die Tschechoslowakei, Jugoslawien bis ins südöstliche Österreich. Weitere Vorkommen vermutlich adventiv durch Getreidesaatgut.

8. *Erysimum diffusum* EHRHARDT (= *E. canescens* ROTH). Von Zentralsibirien nach Osten bis zur Mongolei, nach Süden in den Tien-Shan und Pamir-Altai, gegen Westen nach dem Kaukasus, Transkaukasus, Armenien, Kurdistan, Iran, Irak, Türkei sowie südliches Zentralrussland nach dem Balkan und Osteuropa. Weitere Vorkommen vermutlich adventiv.

9. *Acachmena cuspidata* (MARSCH. v. BIEB.) H. P. FUCHS¹⁸) (= *E. cuspidatum* (MARSCH. v. BIEB.) A. P. DC = *Syrenia cuspidata* (MARSCH. v. BIEB.) REICHENB.). Dieses Taxon steht systematisch zwischen *Erysimum* und *Syrenia*, es wurde daher teils zur ersten, teils zur zweiten Gattung gezählt. Schwarzmeerbecken nach Osten bis zum Kaspischen Meer (im Ostkaukasus), nach Süden bis Iran, Kurdistan und in das südwestliche Kleinasien, nach Westen bis ins Mittelmeergebiet, im Balkan und hier nördlich bis Siebenbürgen und die Ukraine.

10. *Conringia orientalis* (L.) DUMORTIER (= *Brassica orientalis* L. = *E. orientalis* (L.) MILLER). Die Gattung *Conringia* steht systematisch in der Tribus *Brassicaceae* (HAYEK) O. E. SCHULZ,

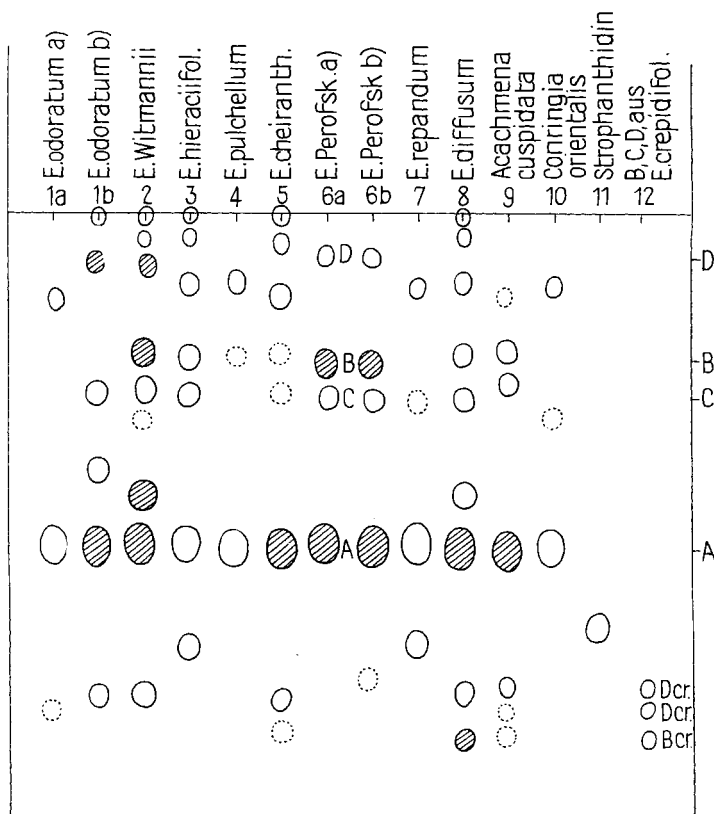


Fig. 2

Chf/Fmd, 7 Std.

Chf-Extr. aus fermentierten Proben

somit relativ weit von *Erysimum* entfernt. Von Zentralasien gegen Norden (Westsibirien) und gegen Süd-West, Zentralrussland bis Iran, Irak, Kleinasien und den Balkan, Ukraine und Osteuropa.

Chemische Untersuchung. Die Samen wurden gemahlen und mit Petroläther bei 20° entfettet. Von dem entfetteten Samenpulver wurde jeweils die Hälfte direkt mit warmem Alkohol extrahiert. Die zweite Hälfte wurde nach früherer Vorschrift¹⁹⁾

¹⁸⁾ H. P. FUCHS, *Taxon* 9, 54 (1960). Der früher gewählte Name *Syreniopsis* in *Acta botan. Acad. Sci. Hung.* 5, 52 (1959), musste aufgegeben werden.

¹⁹⁾ J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1821 (1951).

mit dem wasserlöslichen Teil der in den Samen enthaltenen Fermente in CO_2 -Atmosphäre 3 Tage bei 35° fermentiert. Dadurch werden die zuckerreichen Di- und Triglykoside durch Abspaltung von Glucose weitgehend in Monoglykoside übergeführt. Der fermentative Abbau ist dabei aber nicht vollständig²⁰⁾. Anschliessend wurde genau wie früher beschrieben¹⁹⁾ 5) durch fraktioniertes Ausschütteln aus Wasser mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch grob in 3 Teile getrennt. Von den so erhaltenen Extrakten gaben die Ae-Extrakte mit KEDDE-

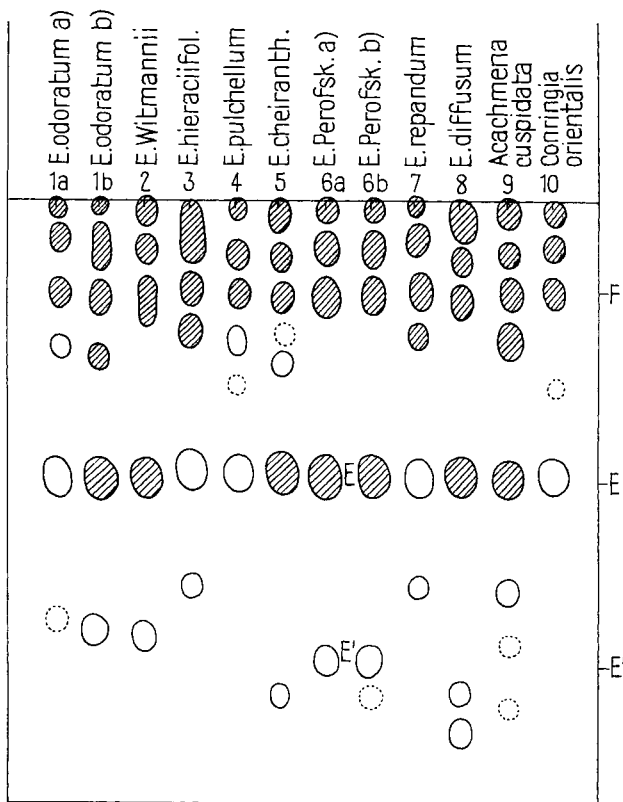


Fig. 3

Be-Bu-(1:1)/W (35%), 15 Std.
Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus fermentierten Proben

Reagens höchstens spurenweise Färbung und wurden daher nicht untersucht. Sehr stark positiv reagierten die Chf- und Chf-Alk-(2:1)-Extrakte. Die ersteren enthielten vorwiegend Mono-Glykoside, in den Chf-Alk-(2:1)-Extr. waren die stärker wasserlöslichen Di- oder Triglykoside vorherrschend. Über die Ausbeuten orientiert Tab. 2 und über das Resultat der Papierchromatogramme die Figuren 1-4. Es werden nur

²⁰⁾ Ein weitergehender Abbau wäre vermutlich erreicht worden, wenn man das entfettete Samenpulver direkt mit viel Wasser angeteigt fermentiert hätte. Das ist hier ohne Schaden möglich, weil diese Samen (im Gegensatz zu *Strophanthus*) keine allomerisierenden Fermente enthalten.

die Resultate bei den fermentierten Proben wiedergegeben. Die unfermentierten Proben zeigten dieselben Flecke, nur waren die Ausbeuten der einzelnen Extrakte verschieden.

Aus Tab. 2 ist ersichtlich, dass der totale Gehalt an Glykosiden bei den *Erysimum*-Arten (Nr. 1–8) ziemlich ähnlich ist; auch *Acachmena cuspidata* enthält ähnliche Mengen, was bei der systematischen Stellung der Pflanze gut begrifflich ist. Cardeno-

Tabelle 2. *Ausbeuten an Extrakten*
Obere Zahl mit, untere Zahl ohne Fermentierung²¹⁾

Species		Pe-Extr.		Ae-Extr.			Chf-Extr.		Chf-Alk-(2:1)-Extr.	
		g	%	g	%	g	%	g	%	
1) <i>E. odoratum</i>	a) 70	16,0	22,9	27,0 27,0	0,39 0,22	1,11 0,63	0,25 0,02	0,72 0,06	0,22 0,45	0,62 1,28
	b) 25	6,2	24,6	9,4 9,4	0,10 0,08	0,98 0,65	0,12 0,01	0,93 0,06	0,08 0,19	0,64 1,51
2) <i>E. witmannii</i>	100	23,5	23,5	30,6 45,9	0,46 0,40	1,16 0,67	0,38 0,04	0,96 0,07	0,28 0,94	0,71 1,60
3) <i>E. hieraciiifolium</i>	130	28,2	21,7	47,0 54,8	0,59 0,36	0,98 0,51	0,41 0,03	0,69 0,04	0,22 0,72	0,39 1,04
4) <i>E. pulchellum</i>	15	3,4	22,7	7,73 3,87	0,08 0,03	0,83 0,61	0,09 0,003	0,87 0,06	0,06 0,07	0,58 1,38
5) <i>E. cheiran- thoides</i>	80	17,4	21,8	31,3 31,3	0,50 0,30	1,26 0,74	0,43 0,03	1,08 0,08	0,29 0,69	0,72 1,72
6) <i>E. perofskia- num</i>	a) 20	4,8	24,1	7,56 7,58	0,132 0,066	1,32 0,66	0,120 0,0083	1,20 0,08	0,076 0,205	0,76 2,05
	b) 150	46,2	26,2	44,4 68,6	1,0 0,73	1,67 0,81	0,858 0,082	1,43 0,09	0,48 1,93	0,80 2,14
7) <i>E. repandum</i>	90	21,2	23,6	30,6 38,2	0,34 0,38	0,86 0,76	0,26 0,02	0,66 0,05	0,18 0,94	0,45 1,88
8) <i>E. diffusum</i>	50	11,9	23,9	19,0 19,0	0,48 0,19	1,95 0,73	0,28 0,02	1,10 0,08	0,18 0,44	0,72 1,74
9) <i>Acachmena cuspidata</i>	60	13,9	23,1	23,1 23,1	0,29 0,17	0,97 0,58	0,23 0,18	0,78 0,06	0,18 0,40	0,61 1,33
10) <i>Conringia orientalis</i>	30	7,3	24,3	10,9 10,9	0,11 0,08	0,72 0,52	0,02 0,002	0,13 0,01	0,01 0,19	0,08 0,13

lide enthält auch *Conringia orientalis*, nur war der Gehalt etwa 10mal kleiner. WILCKE^{2b)} erhielt im Frosttest bei *Acachmena cuspidata* ein positives, bei *Conringia orientalis* ein negatives Resultat.

Aus den Papierchromatogrammen kann entnommen werden, dass Helveticosid (A), Erysimosid (E), Erycorchosid (F) und das nicht rein bekannte Glykosid J ver-

²¹⁾ Pe = Petroläther, Ae = Diäthyläther, Chf = Chloroform, Alk = Alkohol. Die Zahlen beim Ae-Extr. geben nur eine grobe Orientierung, weil es sich hier um ungereinigte Ae-Extr. handelt, die immer noch kleine, aber wechselnde Mengen an Fett enthalten. Aus den weiteren Zahlen ist ersichtlich, dass der Gehalt an Chf-Extr. (~ Monoglykoside) durch die Fermentierung stark zunimmt, während der Gehalt an Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (~ Di- und Triglykoside) entsprechend stark abnimmt.

mutlich²²⁾ in allen 10 Pflanzen (inklusive *Acachmena* und *Conringia*) enthalten sind, obschon die Mengen schwanken dürften. Unterschiede treten bei den anderen Stoffen auf. Relativ viele Arten zeigten im Chf-Extrakt die Flecke B und C, wobei ein gewisser Parallelismus mit der Stellung im natürlichen System unverkennbar ist. E' ist nur in *E. Perofskianum* sicher anwesend. Auch andere Arten zeigen besondere Flecke,

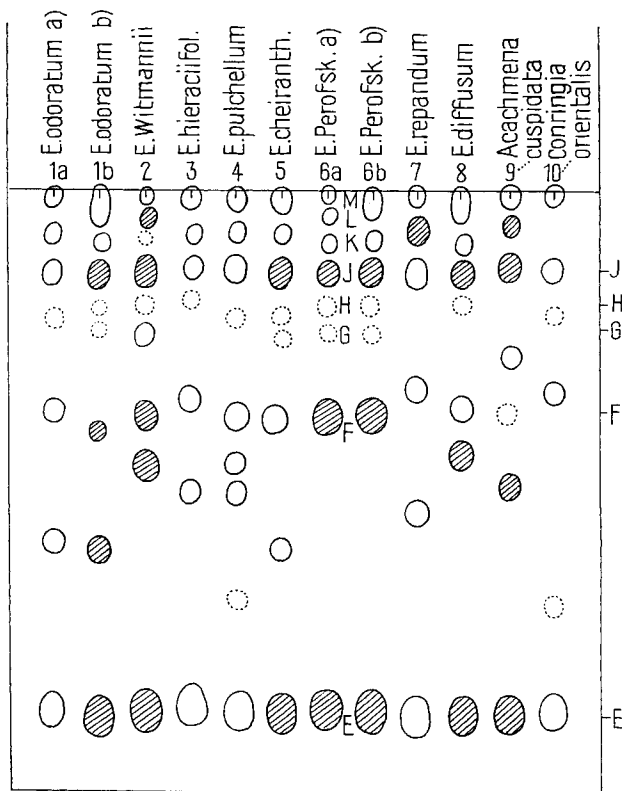


Fig. 4

Be-Bu-(1:1)/W (35%), 30 Std.
Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus fermentierten Proben

die in anderen nicht gefunden wurden. Die grösste Anzahl zeigte *E. Witmannii*. Bei *E. odoratum* zeigten die zwei Proben a) und b) im Chloroform-Alkohol (-2:1)-Extrakt gute Übereinstimmung, während bei den schwach polaren Stoffen im Chloroform-Extrakt merkliche Unterschiede auftraten. Da beide Samenproben ursprünglich von botanischen Gärten stammten, ist es unsicher, ob sie wirklich rein waren.

²²⁾ Eine sichere Identifizierung ist durch die Papierchromatogramme allein natürlich nicht erbracht, insbesondere lässt sich Erysimosid (E) in den verwendeten Systemen nicht von Olorosid unterscheiden¹⁾⁵⁾.

Fig. 1–4 sind schematisierte, aber massgetreue Zeichnungen von Papierchromatogrammen²³⁾. Entwicklung mit KEDDE-Reagens⁸⁾. Zur weiteren Charakterisierung wurden meistens mehrere Chromatogramme gemacht und einzelne auch noch mit SbCl_3 ²⁴⁾ sowie mit Trichloressigsäure-«Chloramin»²⁵⁾ bespritzt und die Färbungen²⁶⁾ verglichen. Als Standard dienten entweder krist. Glykoside oder die Extrakte aus *E. perofskianum* (Nr. 6), aus dem die Isolierung von sieben reinen Cardenoliden kürzlich beschrieben wurde^{1) 5)}. Es bedeuten: A = Helveticosid, B = Corchorosid, C = Glykosid C aus *E. perofskianum*, D = Perofskosid, E = Erysimosid, E' = Eryperosid, F = Erycorchosid. Schraffiert = sehr starke, punktiert = sehr schwache Flecke. In dem benützten System (Fig. 3 und 4) zeigt Olitorisid dieselbe Laufstrecke wie Erysimosid¹⁾. Olitorisid ist *bisher noch nicht aus Erysimum*-Arten isoliert worden.

Ich danke dem SCHWEIZ. NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit und dem polnischen Gesundheitsministerium sowie der HACO AG., Gümliigen, für Stipendien, die mir die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichten.

Experimentelles. – *Beispiel der Aufarbeitung der Samen*. 35 g Samen wurden in der Kaffeemühle fein gemahlen und 10mal mit je 30 ml Petroläther je ca. 30–45 Min. bei 20° digeriert. Die gesammelten Petrolätherauszüge wurden eingedampft und der Rückstand im Vakuum getrocknet und gewogen.

Das entfettete Samenpulver wurde 1–2 Tage im Exsikkator über CaCl_2 getrocknet und gewogen. Dann wurde je ein Teil ohne und ein Teil mit Fermentierung extrahiert⁵⁾. Die Fermentierung wurde wie früher¹⁹⁾ für *Strophanthus*-Samen beschrieben ausgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG

Die papierchromatographische Analyse von 8 *Erysimum*-Arten sowie je einem Vertreter der Gattungen *Acachmena* und *Conringia* wird beschrieben.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

²³⁾ Ausführung nach: a) A. ZAFFARONI, R. B. BURTON & R. E. H. KEUTMANN, J. biol. Chemistry 177, 109 (1949); Science 111, 6 (1950); b) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951); c) E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954); d) F. KAISER, Chem. Ber. 88, 557 (1955). Die Papiere wurden dabei mit 35% ihres Gewichtes Wasser imprägniert. B = Benzol, Bu = n-Butanol, Fmd = Formamid, Thf = Tetrahydrofuran, W = Wasser. Die %-Zahl gibt die Beladung des Papiers mit ruhender Phase an. Wo keine Front angegeben ist, war diese abgetropft.

²⁴⁾ Ausführungsform von R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. 34, 2278 (1951).

²⁵⁾ K. B. JENSEN, Acta Pharmacol. Toxicol. 9, 99 (1953); J. PITRA, H. KOLAROVA & Z. CEKAN, Chem. Listy 52, 745 (1958).

²⁶⁾ Die bezeichneten Stoffe gaben dabei die folgenden Färbungen: Die KEDDE-positiven Substanzen zeigten mit Trichloressigsäure-«Chloramin» im UV. blaue Fluoreszenz, mit SbCl_3 im UV. gelbgrüne Färbungen.
