Majdine when refluxed in 10% acetic acid gave mainly unchanged (I) while heating in pyridine yielded (II) as the principal product. Therefore (I) belong to the *syn* series and (II) to the *anti*⁷. Additionally majdine is more basic [pK_a' for (I) - 4.8, for (II) - 4.4, in 66% DMF] and must be *syn* isomer.

Basing on our recent studies on the stereochemistry of the pentacyclic oxindole alkaloids^{7,8} and on the si-

milarity in the n. m. r. chemical shifts it became clear, that (I) must possess the same *allo* stereochemistry as carapanaubine (III) and pteropodine (VII). The spin decoupled value $J_{19-20} = 10$ c/sec for (I) obtained by irradiation of the C-19 methyl group corresponding to a dihedral angle of 165° as required by expression (I).

M. S. thank the National Science Foundation for grant GP-6394.

⁷ M. SHAMMA, R. J. SHINE, I. KOMPIŠ, T. STICZAY, F. MORSNINGH, J. POISSON, and J. L. POUSSET, J. Amer. chem. Soc. **89**, 1739 [1967].

⁸ I. KOMPIŠ, T. STICZAY, M. SHAMMA, and R. J. SHINE, to be published.

Zur Biosynthese von Steroid-Derivaten im Pflanzenreich

9. Mitt. ¹: Biosynthese von Conessin aus Pregnenolon

R. TSCHESCHE und H. HULPKE

Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn

(Z. Naturforsch. **23 b**, 283—284 [1968]; eingegangen am 3. November 1967)

Δ^5 -Pregnenol-3 β -on-20 bzw. Progesteron sind im Pflanzenreich als Vorstufen der Cardenolide²⁻⁴, der Bufadienolide⁵ (Hellebrin), der Digitanole^{6,7} und einiger Alkaloide mit Pregnangerüst⁸ (Holamin, Holaphyllin und Holaphyllamin) erkannt worden. Bisher ist ein solcher Nachweis jedoch noch nicht für das Conessin (I), das Hauptalkaloid von *Holarrhena antidysenterica* geführt worden, es unterscheidet sich von den vorgenannten Alkaloiden durch einen weiteren heterocyclischen Ring E. Die Isolierung von Holonamin⁹ (II) und Holadyson¹⁰ (III) aus der gleichen Pflanze macht eine solche biogenetische Beziehung hoch wahrscheinlich¹¹, der Beweis hierfür konnte auf folgendem Wege geführt werden:

Wir benutzten für unsere Versuche Pflanzen von *Holarrhena antidysenterica* Wall.*; diese wurden als junge Pflanzen oder als Saatgut aus Indien* bezogen und in einem Warmhaus bei 20–23 °C kultiviert**. Einer älteren, ca. 35 cm großen, sowie einer jüngeren, ca. 12 cm großen Pflanze*** wurde jeweils 4-¹⁴C-Pregnenolon**** in einer Menge entsprechend 2,5 · 10⁶ Imp./min über die Blattoberfläche appliziert¹². Nach 3-wöchiger Inkubationszeit wurden die Pflanzen aufgearbeitet¹³. Blätter und Rinde der Pflanzen wurden zerkleinert und mit dem Ultraturrax in 150 ml einer Mischung Methylenchlorid/Äthanol/NH₃ 4 : 4 : 1 homogenisiert. Nach 48 Stdn. Rühren filtrierte man ab und engte das Filtrat zur Trockne ein. Es wurden 100 ml Methylenchlorid zugesetzt und die Alkaloide durch dreimaliges Ausschütteln mit je 50 ml 3-proz. Salzsäure der organischen Phase entzogen. Nach dem Versetzen mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion wurde durch Extraktion mit Methylenchlorid ein Rohgemisch der Alkaloide erhalten, das ca. 4% der applizierten Aktivität enthielt. Durch Plattenchromatographie an Kiesegel G konnte aus dem sehr komplexen Alkaloidgemisch

⁶ R. D. BENNETT, H. H. SAUER u. HEFTMANN, Naturwissenschaften **54**, 226 [1967].

⁷ R. TSCHESCHE u. B. BRASSAT, Z. Naturforsch. **22 b**, 679 [1967].

⁸ R. D. BENNETT u. E. HEFTMANN, Phytochemistry **4**, 873 [1965].

⁹ R. TSCHESCHE, G. SNATZKE u. H. OCKENFELS, Chem. Ber. **97**, 2316 [1964].

¹⁰ R. TSCHESCHE, G. SNATZKE u. I. MÖRNER, Liebigs Ann. Chem. **670**, 103 [1963].

¹¹ R. TSCHESCHE, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe **24**, 135 [1966].

* Die Pflanzen wurden von der Firma Prachi Gobeson, Anadapuri, P. O. Barrackpore (Calcutta), Indien, bezogen.

** Wir danken Herrn Prof. Dr. M. STEINER, Institut für Pharmakognosie Bonn, für die botanische Bestimmung der Pflanzen sowie für die Arbeitsmöglichkeit in einem Gewächshaus.

*** Herrn Dr. B. BRASSAT sei für Vorversuche über den Alkaloidgehalt der Pflanzen gedankt.

**** Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung von Mitteln zur Beschaffung von radioaktivem Material.

¹² R. D. BENNETT u. E. HEFTMANN, Phytochemistry **4**, 577 [1965].

¹³ R. TSCHESCHE u. R. PETERSEN, Clem. Ber. **87**, 1719 [1954].

¹ 8. Mitt.: R. TSCHESCHE u. H. HULPKE, Z. Naturforsch. **22 b**, 791 [1967].

² R. TSCHESCHE u. G. LILIENWEISS, Z. Naturforsch. **19 b**, 265 [1964].

³ E. CASPI u. D. O. LEWIS, Science [Washington] **156**, 519 [1967].

⁴ H. SAUER, R. D. BENNETT u. E. HEFTMANN, Phytochemistry **6**, 1521 [1967].

⁵ R. TSCHESCHE u. B. BRASSAT, Z. Naturforsch. **20 b**, 707 [1965].

eine radioaktive Fraktion isoliert werden, deren R_f -Wert mit authentischem Conessin in verschiedenen Lösungsmittelsystemen übereinstimmte. Zur weiteren Sicherung dieses Ergebnisses wurde mit 70 mg inaktivem authentischem Conessin versetzt und das Gemisch 5-mal aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Die spezifische Aktivität blieb nach der 3. Fraktion bei 45 Imp./min konstant.

Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse von beiden Pflanzen ergab, daß bei der kleineren Pflanze ca. 0,2%, bei der größeren ca. 0,3% des angebotenen Pregnenolons in Conessin eingebaut wurde.

Die übrigen Alkaloide der Versuchspflanzen wurden noch nicht weiter untersucht. In der Neutralfraction fand sich zum großen Teil noch unverändertes Pregnenolon. 30% der Gesamtaktivität lag als Pregnenolonester vor, dessen chromatographische Beweglichkeit darauf hinweist, daß es sich um einen höheren Fettsäureester, wahrscheinlich das Pregnenolonpalmitat, handelt. Nach Verseifung mit 5-proz. methanolischer Kalilauge wurde

Lösungsmittel	R_f -Wert
Petroläther/Dioxan/ NH_3 40:20:0,5	0,45
Chloroform/ NH_3 /Methanol/Pyridin 40:0,5:1:2	0,63
Chloroform/Methanol/ NH_3 50:5:1	0,7

Tab. 1. R_f -Werte in verschiedenen Lösungsmitteln.

quantitativ Pregnenolon zurückerhalten. Vermutlich wird das Überangebot an Pregnenolon durch Veresterung in diese lipophile Speicherform übergeführt.

Diese Befunde zeigen, daß *Holarrhena antidysenterica* Wall. Pregnenolon mit 4-proz. Ausbeute zum Aufbau von Alkaloiden verwerten kann. Die Einbaurate an Conessin beträgt ca. 0,3%, sie liegt aber wahrscheinlich noch höher, da bei der Aufarbeitung ein erheblicher Teil verloren gegangen sein dürfte.

Isolierung der Proteinkomponenten des Lamellarsystems der Chloroplasten

ROBERT SCHMITZ *, GÜNTER BAUER-STÄB **
und GERHARD BRAUNITZER ***

Max-Planck-Institut für Biochemie, München

(Z. Naturforsch. 23 b, 284—285 [1968]; eingeg. am 17. November 1967)

Vor kurzem zeigten wir, daß das Lamellarprotein¹ der Chloroplasten mehrerer Pflanzen elektrophoretisch in Acrylamid-Gel in 3 Banden aufgetrennt werden kann. Wir nannten diese Komponenten die γ -, β - und α -

Abb. 1. Gelfiltration des Lamellarproteins aus Spinachchloroplasten. Ausgezogene Kurve: Ninhydrinreaktion nach alkalischer Hydrolyse, gestrichelte Kurve: Extinktion bei 667 nm.

Banden². Diese Ergebnisse konnten erzielt werden, wenn in einem stark dissoziierenden Puffer aus 50% Phenol, 25% Ameisensäure und 25% H_2O gearbeitet wurde.

Der sehr niedrige pH-Wert des verwendeten Puffers und die definierte Vernetzung des Gels ließen Unklarheit darüber, ob die Auftrennung der Proteine mehr auf einer unterschiedlichen Ladung oder auf einem Siebeffekt des Gels beruht. Es war ferner noch offen, ob tatsächlich nur drei Banden, d. h. Proteine vorkommen, oder ob das Proteinspektrum komplexer ist, als dies aus der Elektrophorese allein zu schließen war. Zur Klärung dieser Verhältnisse haben wir weitere Versuche durchgeführt.

Wir versuchten die Trennung der Proteine an Bio-Gel P 150: Als Lösungsmittel für die Lamellen wie auch als Elutionsflüssigkeit verwendeten wir eine Mischung aus 2 Gewichtsteilen Phenol, 1 Vol.-Teil Essigsäure und

Abb. 2. Phorogramme der einzelnen Komponenten des Lamellarsystems. Von links nach rechts: a) ganze Lamellen, b) 3. Gipfel, c) 2. Gipfel, d) 1. Gipfel der Gelfiltration, e) ganze Lamellen. Bedingungen s. l. c.².

* Verschieden am 10. April 1967. ** Auszug Dissertation G. BAUER-STÄB, Universität München, in Vorbereitung. *** Postanschrift: Prof. Dr. G. BRAUNITZER, 8 München 15, Goethestraße 31.

¹ W. MENKE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 257, 43 [1938].

² G. BRAUNITZER u. G. BAUER, Naturwissenschaften 54, 70 [1967].