Die chemiese en biologiese evaluering van *Kanahia laniflora* (Asclepiadaceae)*

A.M.C. Kruger en L.M. Gerritsma-Van der Vijver

Departement Farmaseutiese Chemie, Potchefstroomse Universiteit vir C.H.O., Potchefstroom

UITTREKSEL

Volledige plante met vrugte van *Kanahia laniflora* (Asclepiadaceae) is aan sowel primêre chemiese as biologiese evaluering onderwerp. Die voortoetse is op gevriesde vars plantmateriaal uitgevoer. Hartglikosiede, flavonoïede, fenoliese verbindings, koolhidrate en aminosure is aangetoon, maar geen antimikrobiese of fototoksiese aktiwiteit is waargeneem nie. Die Hippokratiese evaluering toon definitiewe aanduidings van simpatiese stimulasie, sentrale sensuueestelsel (SSS)-onderdrukking, diuretiese aktiwiteit en perifere vasodilasie, en in mindere mate psigotropiese aktiwiteit en die teenwoordigheid van 'n metaboliese gif.

ABSTRACT

A chemical and biological evaluation of Kanahia laniflora (Asclepiadaceae)

A chemical as well as a biological screening was performed on fresh frozen plant material (root, stem, leaves, fruit) of *Kanahia laniflora* (Asclepiadaceae). The chemical tests were positive for cardiac glycosides, flavonoids, phenolic compounds, carbohydrates and amino acids. The plant showed no antimicrobial or phototoxic activity. The Hippocratic evaluation revealed a definite indication of sympathetic stimulation, CNS depression, diuretic activity and peripheral vasodilatation, and a slight indication of psychotropic activity and a metabolic poison.

1. INLEIDING

As deel van 'n projek om 'n databank van die chemiese samestelling en biologiese aktiwiteit van plantspesies wat in die Potchefstroomdistrik voorkom, op te bou, is enkele spesies van die plantfamilie Asclepiadaceae ondersoek.

Die Asclepiadaceae sluit ongeveer 300 genera in, waarby ongeveer 3 200 spesies onderskei kan word. Volgens Riley¹ kom daar 55 genera in Suid-Afrika voor, waarvan 22 endemies is, en wat bekende spesies soos die bitterwortel, melkbos, gansies, wilde kapok, aasblom en ghaap insluit. Die familie kom wydverspreid in tropiese en subtropiese streke voor, terwyl enkele van die genera ook in gematigde streke voorkom.² Die familie bestaan uit kruidagtige struie, klimplante en sukkulente, waarvan sommige ryk is aan melksap. Die blomme is wasagtig en besit 'n onaangename geur.³

Wat toksikologie betref, is daar spesies wat as gifplante van Suid-Afrika geklassifiseer is, en wat vir veeverliese verantwoordelik is. Die simptome kan maklik verwar word met krimpsiekte en hartwater in die geval van onderskeidelik *Cynanchum ellipticum* (Harv.) R.A. Dyer en *Sarcostemma viminalis* (L.) R.Br., en *Asclepias fruticosa* L. bevat hartglikosiede wat dieselfde simptome as wat by tulp- en slangkop-vergiftiging⁴ voorkom, veroorsaak.

2. CHEMIESE EIENSKAPPE VAN DIE FAMILIE

Volgens die literatuur kom die volgende verbindings in die Asclepiadaceae voor:

2.1 Alkaloïede

Alkaloïede is al uit 'n paar spesies geïsoleer,^{5,6,7} maar kom nie algemeen in die familie voor nie.⁸

2.2 Hartglikosiede

Die hartglikosiede is van die kardenoliedtipe, en is uit verskeie spesies geïsoleer.^{8,9,10,11,12,13}

2.3 Bitterstowwe

Hierdie verbindings is glikosiede met 'n sterk bitter smaak, en kom wydverspreid in die Asclepiadaceae voor. Die aglikon bestaan uit 'n polihidroksiesteroid wat met 'n organiese suur soos bensoësuur, kaneelsuur, isovaleriensuur of asynsuur verester is, en wat glikosidies aan suikers gebonde is, byvoorbeeld simarose, tevetose, glukose en/of digitalose.^{8,9,10}

2.4 Triterpene en Steroïede

Vrye triterpene en steroïede kom sowel in die melksap as in weefsels voor, en is al uit baie spesies geïsoleer.⁸

2.5 Ander verbindings

Die Asclepiadaceae is bekend vir die biosintese van verskeie sikliete (sikliese koolhidrate), soos viburnit en kondurit.^{8,14} Verskillende flavonoïedglikosiede is ook by enkele spesies aangetoon of geïsoleer.^{8,15}

3. ALGEMENE GEBRUIKE VAN DIE FAMILIE

Die familie het 'n verskeidenheid etniese gebruike wat strek van die eet van plante tot die gebruik as pylgif. Medisinaal word die plante gebruik as emetika, anthelmintika, aborteermiddels, insektisiede, ekspektorante, ens. Die vesels word gebruik om kussings te stop, vislyn en -nette te maak, en as weef-

*Referaat gelewer tydens die sesde jaarkongres van die Akademie vir Farmaseutiese Wetenskappe in Pretoria, 3 en 4 Mei 1985.

stowwe. Van die spesies word ook aangewend in die rituele van toordokters, byvoorbeeld om weerlig af te weer.¹⁶

Sitotoksiese aktiwiteit kom by sommige spesies voor. Die kardenoliede van *Cryptostegia grandiflora* is byvoorbeeld aktief teen 'n menslike nasofaringeale karsinoom,¹⁷ terwyl 'n alkaloid van die *Tylophora*-spesies, tilokrebrien, teen limfoïede leukemie L1210 in muis aktief is.¹⁸ Die stam van *Cryptostegia grandiflora* toon molluskisiede aktiwiteit met 100% mortaliteit by 100 dpm.¹⁹

Ook in die diereryk word die Asclepiadaceae nuttig deur insekte vir beskerming aangewend. Daar is gevind dat die koningskoenlapper, *Danaus plexippus* L., eiers uitsluitlik op die giftige *Asclepias curassavica* lê, en die larwes leef dan van dié spesies. Uit die skoenlappers self is tien kardenoliede geïsoleer wat ooreenstem met dié van *A. curassavica*, en wat braking in die blougaai induseer. As gevolg hiervan word die skoenlappers as voedselbron deur dié voëls vermy.^{20,21,22,23,24} Die sprinkaan *Poecilocerus bufonius* leef ook hoofsaaklik van die Asclepiadaceae. Wanneer *P. bufonius* aangeval word, word die giftige kardenoliede as 'n skuim of sproei gesekreter.^{21,25}

4. KANAHIA LANIFLORA (Forsk.) R.Br.

Daar is 4 *Kanahia*-spesies waarvan al vier in Afrika voorkom en slegs een ook in Arabië aangetref word. Twee spesies kom in Zimbabwe, Mosambiek, Noord-Transvaal en Angola voor.¹ Een van die spesies in Transvaal is as *Kanahia laniflora* (Forsk.) R.Br. geïdentifiseer.²

Wat chemiese eienskappe betref, kom daar volgens Kapur *et al.*¹¹ 'n klein hoeveelheid kardenoliede met 'n onbekende struktuur in die wortel voor, asook 'n groot aantal esterglikosiede. Na hidrolise van 'n mengsel van hierdie glikosiede is 'n aantal aglikone geïsoleer, onder andere 17-isolineolon (Fig. 1) en deasetielmetapleksigenien (Fig. 2). Abisch *et al.*²⁶ toon die aanwesigheid van 2-deoksiesuikers, kardenoliede en koolhidrate aan.

Daar is geen aanduiding van enige gebruik, medisinale of anders, van *K. laniflora* nie.

FIGUUR 1: 17-Isolineolon

FIGUUR 2: Deasetielmetapleksigenien

TABEL 1
Resultate van die chemiese voortoetse van *Kanahia laniflora*

	Wortels	Stingels	Blare	Vrugte
Alkaloïede	—	—	—	—
Antraknone	—	—	—	—
Sianogene verbindings	—	—	—	—
Hartglikosiede:				
Onversadigde laktoring	+	+	?	+
Steroïedkern	+	+	+	+
2-Deoksiesuikers	+	+	+	+
Saponiene	—	—	—	—
Tanniene	—	—	—	—
Fenoliese verbindings	—	+	+	+
Flavonoïede	—	+	+	+
Koolhidrate:				
Reduserende suikers	+	+	+	+
Nie-reduserende suikers	—	—	—	?
Polisaggariede	—	—	—	—
Ketone	—	+	—	+
Stysel	+	+	—	—
Aminosure	+	+	+	+

Sleutel: + = Positief
— = Negatief
? = Swak positief

5. EKSPERIMENTELE RESULTATE

Volledige plante met vrugte van *Kanahia laniflora* is gedurende Maartmaand in die Mooirivier (Potchefstroom) versamel. Die verskillende plantdele is afsonderlik gevries, en die voortoetse – sowel chemies as biologies – is op die gevriesde vars plantmateriaal uitgevoer.

5.1 Chemiese voortoetse

Die chemiese voortoetse wat uitgevoer is, is dié soos deur Gerritsma-Van der Vijver *et al.*²⁷ vermeld. Die resultate is in Tabel 1 saamgevat.

5.2 Biologiese voortoetse

A. Antimikrobiële aktiwiteit

Die antimikrobiële aktiwiteit is deur middel van die direkte plaatmetode getoets.²⁸ Die toetsorganismes wat gebruik is, is die volgende:

1. Bakterieë

- Gram-positief: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* var. haemolyticus, *Bacillus licheniformis*, *B. cereus*, *Micrococcus luteus*.
- Gram-negatief: *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

2. Fungi

- Skimmels: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.
- Gis: *Candida albicans*

Nie een van die plantdele van *K. laniflora* het enige antimikrobiële aktiwiteit getoon nie.

B. Fototoksiese aktiwiteit

Die fototoksiesiteit van die plantdele is volgens die metode van Weimarck en Nilsson²⁹ getoets. Nie een van die plantdele het enige fototoksiese aktiwiteit getoon nie.

C. Hippokratiese voortoetse volgens Malone en Robichaud³⁰

Vir die biologiese voortoetse met 'n soogdiermodel is die Hippokratiese toetse op witrotte uitgevoer. Vars verpoëerde plantmateriaal (200 maas) is as 'n suspensie in 0,25% agar I.P. toegedien, waarna die rotte vir sewe dae volgens die metode van Malone en Robichaud³⁰ geëvalueer is (sien ook Gerritsma-Van der Vijver *et al.*²⁷). 'n Minimum van drie rotte, en in sommige gevalle vier tot vyf rotte per dosis, is in 'n doseringsreeks gebruik waarby elke plantdeel afsonderlik toegedien is. 'n Opsomming van die simptome soos op die werkskaarte genoteer, is in Tabela 2 – 5 saamgevat. Teenstrydige simptome is by verskil-

TABEL 2
Resultate van die Hippokratiese voortoetse van die vrugte

Simptome	Farmakologiese aktiwiteit	100 mg/kg°		562,4 mg/kg°		1 000 mg/kg°		1 778,38 mg/kg°	
		Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"
Verlaagde motoriek Verlaagde respirasie – diepte – tempo	SSS-onderdrukking					1	? – +	3	? – +
	SSS-onderdrukking/ Skeletspierverslapping	1	+ – + + +	3	+ – + + +	3	+ – + + +	2 3	+ + – + +
Verhoogde motoriek Verhoogde respirasie – diepte – tempo	Simpatiese stimulasie							2	? – + +
		1	+ – + +	2 1	+ + – + + +	2 2	+ +	3 2	+ + – + +
Eksoftalmos Midriase	Simpatiese stimulasie	1	+	2	+	2	+	3	+
	Simpatiese stimulasie	1	+			1	+	3	+ – + +
Oor: hiperemie	Psigotropie/Perifere vasodilatasie					1	+	2	+
Salivasie Pilomotoriese ereksie Robichaudtoets Mikturisie Diarree	Parasimpatiese stimulasie	1	+	1	+	1	+	2	+
	Simpatiese/parasimpa- tiese stimulasie			1	? – + +	3	+ – + +	1	+
	Diurese					1	+	2	+ – + + + +
	Diurese	3	+	3	+	2	+	2	+
	Parasimpatiese stimulasie	3	+ – + + +	3	+ – + + + +	1	++	1	+ + + +
Kop tik: passief beangs Liggaamsgreep: aggressief passief beangs Massaverlies (omkeerbaar)	Psigotropie	3	+	2 1	+ +	2 2	+ +	2 2	+ +
	Simpatiese stimulasie	1	+	1	+	1	+	3	+
	Psigotropie	1	+			1	+	2	+
	Diurese	1	+	3		2*;1		3	
Stereotipie Dodetal	Psigotropie							2	
		0		0		2		3	

Sleutel: SSS = Sentrale senuweestelsel

° = Aantal proefdiere: 3

' = Aantal proefdiere wat die simptome vertoon

" = Kwantitatiewe waarde van die simptome van swak (+) tot sterk (+ + + +)

* = Onomkeerbaar (Metaboliese gif)

? = Twyfelagtige reaksie

TABEL 3
Resultate van die Hippokratiese voortoetse van die blare

Simptome	Farmakologiese aktiwiteit	100 mg/kg°		562,4 mg/kg°		1 000 mg/kg°		1 778,38 mg/kg°°	
		Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"
Verlaagde motoriek	SSS-onderdrukking	1	?-+	2	?-++	3	?-++	3	?-++
Ataksie	SSS-onderdrukking/ Skeletspierverslapping	2	+	1	+	1	+	1	?
Roostergreepverlies	Skeletspierverslapping	1	+ - + + +	1	? - + +				
Verlaagde respirasie	SSS-onderdrukking/ Skeletspierverslapping	1	+			2	+		
- diepte		3	+ - + + +	3	+ - + + +	2	+ - + + +	3	+ - + + +
- tempo									
Verhoogde motoriek	Simpatiese stimulasie					2	+ - + +	4	+ - + +
Verhoogde respirasie		1	+	3	+	3	+ - + +	4	+ - + +
- diepte		1	+	2	+ - + + +	2	+ - + + +	2	+ - + + +
- tempo									
Eksoftalmos	Simpatiese stimulasie	2	+	3	+	2	+	4	? - + +
Midriase	Simpatiese stimulasie	2	+	1	+			4	+ - + +
Oor: hiperemie	Parasimpatiese stimulasie/ Perifere vasodilatasie	1	+	1	+ - + +	3	+	3	+
Salivasie	Parasimpatiese stimulasie	2	+ - + +	2	+ - + +	2	+	3	+ - + +
Pilomotoriese ereksie	Parasimpatiese/simpati- tiese stimulasie					2	+ - + +	1	+
Mikturisie	Diurese	1	+	2	+	3	+	4	+ - + + +
Diarree	Parasimpatiese stimulasie					3	+ - + + +		
Kop tik: aggressief	Simpatiese stimulasie	1	+			2	+	1	+
passief		3	+	3	+	3	+	4	+
beangs	Psigotropie	1	+			3	+	2	+
Liggaamsgreep: aggressief	Simpatiese stimulasie			2	+	2	+	2	+
passief		2	+	2	+	2	+	2	+
beangs	Psigotropie	3	+			1	+	1	+
Massaverlies (omkeerbaar)	Diurese	2		2		3		3	
Dodetal		0		1		0		2	

Sleutel: °° = Aantal proefdiere: 5

Vu die res van die kodes, vergelyk Tabel 2.

lende tydsintervalle by sommige rotte waargeneem. So kan eksoftalmos én enoftalmos by dieselfde rot waargeneem en genoteer word. Met die evaluering is die duur van die simptome, asook die aantal proefdiere waarin dit voorkom, in ag geneem. Die farmakologiese klassifikasie is volgens die metode van Malone *et al.*³¹ gedoen. Die aanwesigheid van 70–100% van die simptome van 'n betrokke farmakologiese aktiwiteit is as definitiewe aktiwiteit beskou, terwyl minder as 70% as 'n aanduiding van moontlike aktiwiteit beskou is.

Die resultate wat met elke plantdeel verkry is, word hierna afsonderlik bespreek. Dit blyk dat daar by die meeste van die farmakologiese aktiwiteite 'n dosis-effekverhouding bestaan.

a. Vrugte

By 1 000 mg/kg-dosering (Tabel 2) is daar 'n aanduiding van sentrale senuweestelsel (SSS)-onderdrukking, terwyl die hoogste dosis (1 778,38 mg/kg) 'n meer definitiewe werking toon, nl. diurese, simpatiese stimulasie en perifere vasodilatasie, met 'n aanduiding van SSS-onderdrukking en psigotropiese aktiwiteit.

b. Blare

Volgens die resultate in Tabel 3 toon die 100 mg/kg-dosering alreeds tekens van simpatiese stimulasie, perifere vasodilatasie en skeletspierverslapping. Dieselfde aktiwiteit kom by 314 mg/kg saam met SSS-onderdrukking en diurese kom by 562 mg/kg voor, met 'n meer definitiewe aanduiding van simpatiese stimulasie en perifere vasodilatasie. Die 1 000 mg/kg-dosering toon 'n mate van parasimpatiese stimulasie en diurese, maar die SSS-onderdrukking, simpatiese stimulasie en perifere vasodilatoriese effekte oorheers.

c. Stingels

By al drie dosisse (Tabel 4) het dieselfde aktiwiteit voorgekom, nl. psigotropie, simpatiese stimulasie en perifere vasodilatasie. By 562,4 en 1 000 mg/kg is daar ook 'n diurese aktiwiteit. Daar is egter by geen van die doserings 'n goed gedefinieerde aktiwiteit nie.

d. Wortels

By die wortels (Tabel 5) kom daar 'n aantal

aktiwiteitte voor, waarvan simpatiese stimulasie by al vier dosisse waarneembaar is, en wat veral by 562,4 en 1 000 mg/kg 'n sterk effek het. Die 100 mg/kg-dosering gee ook 'n aanduiding van psigotropiese en diuretiese aktiwiteit, terwyl die 562,4 mg/kg-dosis 'n definitiewe aanduiding van 'n metaboliese gif toon. Parasimpatiese stimulasie en diuretiese en kalmerende aktiwiteitte kom by 1 000 mg/kg voor, terwyl 1 778,38 mg/kg 'n aanduiding van psigotropie, en meer definitief van diuretiese en perifere vasodilatoriese aktiwiteit, toon.

6. GEVOLGTREKKING

Hartglikosiede toon hoofsaaklik 'n werking op die kardiovaskulêre stelsel, maar het ook sekere effekte op die SSS. Die rothart is egter relatief ongevoelig vir hartglikosiede, met die gevolg dat die effekte op die SSS sal oorheers. Hierdie effekte is o.m. anoreksie, naarheid met of sonder salivasie, braking, diarree, abdominale pyn, moegheid, disoriëntasie, hallusinasies en in enkele gevalle konvulsies.³²

Die resultate van die Hippokratiese evaluering van *Kanahia laniflora* toon definitiewe aanduidings van simpatiese stimulasie, SSS-onderdrukking, diurese en perifere vasodilatasie, en in mindere mate psigotropie en 'n metaboliese gif. Anoreksie, salivasie, diarree en psigotropiese effekte is van die simptome wat by die

rotte waarneembaar is, en as algemene effekte van hartglikosiede bekend is. Aangesien die chemiese voortoetse die teenwoordigheid van hartglikosiede in *K. laniflora* bevestig het, blyk dit dat daar 'n verband tussen die chemiese en biologiese resultate bestaan.

DANKBETUIGING

Ons dank aan mnr. Bert Ubbink, Kurator van die Botaniese Tuin van ons universiteit, vir sy hulp met die identifikasie en versameling van die plantmateriaal.

Ontvang 9 Jan. 1986; aanvaar 27 Jan. 1986.

LITERATUURVERWYSINGS

1. Riley, H.P. (1963). *Families of flowering plants of Southern Africa* (University of Kentucky Press, Lexington) pp. 115-119.
2. Philips, E.P. (1951). *The genera of South African flowering plants*. 2nd ed. (Cape Times Ltd. Government Printers, Pretoria) pp. 590, 600.
3. Pienaar, K. (1984). *Die Suid-Afrikaanse watter blom is dit?* (C. Struik, Kaapstad) p. 9.
4. Vahrmeijer, J. (1981). *Gifplante van Suider-Afrika wat vee-verliese veroorsaak* (Tafelberg, Kaapstad) pp. 114-119.
5. Wiegbe, W., Faber, L., Breyhan, Th. (1971). Zur Frage der absoluten Konfiguration zweier Alkaloide aus *Cynanchum vincetoxicum* (L.) pers. *Arch. Pharm., Berl.*, 304, 188-194.
6. Budzikiewicz, H., Faber, L., Harrmann, E-G., Perrollaz, F.F., Schlunegger, U.P., Wiegbe, W. (1979). Vinceten, ein Benzopyrrolisochinolin-Alkaloid, aus *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers. (Asclepiadaceae), *Justus Liebigs Annln. Chem.*, (8), 1212-1231.

TABEL 4
Resultate van die Hippokratiese voortoetse van die stingels

Simptome	Farmakologiese aktiwiteit	562,4 mg/kg°		1 000 mg/kg°°		1 778,38 mg/kg°	
		Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"
Verlaagde motoriek Verlaagde respirasie – diepte – tempo	SSS-onderdrukking			2	? – +	2	? – + +
	SSS-onderdrukking/ Skeletspierverslapping	2 2	+ + – + + +	3 4	+ + – + + +	2	+ – + + +
	Simpatiese stimulasie	3 3 1	? – + + + + – + + + + – + + +	5 5 3	? – + + + ? – + + + + – + + +	2 3 2	+ – + + + + – + + + + – + + +
Enoftalmos Eksoftalmos Midriase	Parasimpatiese stimulasie			2	? – +		
	Simpatiese stimulasie	2	? – + +	3	? – + +		
	Simpatiese stimulasie/ Psigotropie	1	+	2	+	3	+ – + +
Oor: velverbleking hiperemie	Psigotropie/Perifere vasodilatasie	2	? – +	2 2	? – + ? – + +	3	+
Pilomotoriese ereksie	Simpatiese/parasimpa- tiese stimulasie			1	+		
Robichaudtoets	Diurese	2	? – + + +	2	? – +	2	? – + +
Kop tik: passief beangs Liggaamsgreep: aggressief passief beangs	Psigotropie	2 2	+ +	3 3	+ +	3 1	+ +
	Simpatiese stimulasie	3	+	3	+	3	+
	Psigotropie	1	+	2	+	3	+
Massaverlies (omkeerbaar)	Diurese	1°; 2		4		3°	
Stereotipie Dodetal	Psigotropie	3 # 1		4 #; 1 #, # # 0		2 #; 1 #, # # 3	

Sleutel: # = Loop hoog op agterpote

= Retireer

°° = Aantal proefdiere: 5

Vir die res van die kodes, vergelyk Tabel 2.

TABEL 5
Resultate van die Hippokratiese voortoetse van die wortels

Simptome	Farmakologiese aktiwiteit	100 mg/kg°		562,4 mg/kg°		1 000 mg/kg°°°		1 778,38 mg/kg°	
		Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"	Aantal'	Waarde"
Verlaagde motoriek	SSS-onderdrukking/ Metaboliese gif/kalmering	3	?	2	?-++++	4	?-++	2	?-+
Regopspringrefleksverlies	Skeletspierslappig			1	+++				
Roostergreepverlies	Skeletspierslappig			1	+			2	+
Verlaagde respirasie									
– diepte	SSS-onderdrukking/ Skeletspierslappig	1	+	1	++	2	+	2	+
– tempo		3	++	3	++	2	++	3	++
Verhoogde motoriek	Simpatiese stimulasie	2	?-+++	2	?-+++	3	?-++	3	?-+++
Verhoogde respirasie									
– diepte		2	+	3	++	4	+	3	++
– tempo				2	++	3	++	2	++
Enoftalmos	Parasimpatiese stimulasie					3	?-+	2	?-+
Eksoftalmos	Simpatiese stimulasie	3	?-+	3	?-+	2	?-+	2	?
Ptose	Kalmering					2	++		
Midriase	Simpatiese stimulasie/ Psigotropie			1	++	2	+	3	++
Oor: velverbleking hiperemie	Psigotropie/Perifere vasodilasie			2	+	3	?-+	2	?-+
				1	+			3	+
Salivasie	Parasimpatiese stimulasie			1	+	2	+		
Pilomotoriese ereksie	Parasimpatiese/simpa- tiese stimulasie/ metaboliese gif	1	+	3	?-+	2	+	1	?-+
Robichaudtoets	Diurese/metaboliese gif			1	+	2	?-++	2	?-+
Mikturisie	Diurese	2	+	1	+	1	+	2	+
Kop tik: aggressief	Simpatiese stimulasie	1	+	1	+	1	+		
passief		2	+	3	+	3	+	2	+
beangs	Psigotropie	2	+	2	+	1	+	2	+
Liggaamsgreep: aggressief	Simpatiese stimulasie	2	++	2	+	2	+		
passief		2	+	1	+	2	+	1	+
beangs	Psigotropie			1	+	2	+	2	+
Massaverlies (omkeerbaar)	Diurese	3		1*;2		2*;2		3*	
Stereotipie	Psigotropie	3		3		3		3	
Hiperrefleksie	Psigotropie	1		1					
Dodetal		0		2		3		3	

Sleutel: °°° = Aantal proefdiere: 4

Vir die res van die kodes, vergelyk Tabel 2.

7. Bhutani, K.K., Ali, M., Atal, C.K. (1984). Alkaloids from *Tylophora hirsuta*, *Phytochem.*, 23, 1765-1769.
8. Hegnauer, R. (1964). *Chemotaxonomie der Pflanzen*: Band 3 (Birkhauser Verlag, Basel) pp. 199-223.
9. Korte, F. & Korte, I. (1955). Charakteristische Pflanzen-Inhaltsstoffe VIII. Mitt.: über die Beziehung zwischen morphologischer Systematik und chemischen Inhaltsstoffen bei den Asclepiadaceen, *Z. Naturf.*, Teil. B., 10, 223-229.
10. Abisch, E., Tamm, Ch., Reichstein, T. (1959). Die Glykoside der Wurzeln von *Pachycarpus lineolatus* (Decne.) Bullock (oder *P. schweinfurthii* (N.E.Br.) Bullock), *Helv. chim. Acta*, 42, 1014-1052.
11. Kapur, B.M., Allgeier, H., Reichstein, T. (1967). Die Glykoside der Wurzeln von *Kanahia laniflora* (Forssk.) R.Br. 1. Mitteilung: Isolierungen, *Helv. chim. Acta*, 50, 2147-2171.
12. Seiber, J.N., Nelson, C.J., Lee, S.M. (1982). Cardenolides in the latex and leaves of seven *Asclepias* species and *Calotropis procera*, *Phytochem.*, 21, 2343-2348.
13. Sanduja, R., Lo, W.Y.R., Euler, K.L., Alam, M., Morton, J.F. (1984). Cardenolides of *Cryptostegia madagascariensis*, *J. Nat. Prod.*, 47, 260-265.
14. Kindl, H., Hoffmann-Ostenhof, O. (1966). Untersuchungen über die Biosynthese der Cyclite. XIII. Vorkommen und Biosynthese von Cycliten in Asclepiadaceae, *Phytochem.*, 5, 1091-1102.
15. Sankara Subramanian, S., Nair, A.G.R. (1968). Flavonoids of some Asclepiadaceous plants, *Phytochem.*, 7, 1703-1704.
16. Watt, J.M. & Breyer-Brandwijk, M.G. (1962). *The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. 2nd ed. (Livingstone, Edinburgh) pp. 119-142.
17. Doskotch, R.W., Malik, M.Y., Hufford, C.D., Malik, S.N., Trent, J.E., Kubelka, W. (1972). Antitumor agents V: Cytotoxic cardenolides from *Cryptostegia grandiflora* (Roxb.) R.Br., *J. Pharm. Sci.*, 61, 570-573.
18. Gellert, E., Rudzats, R. (1964). The antileukemia activity of tylocrebrine, *J. Med. Chem.*, 7, 361-362.
19. Adewunmi, C.O. & Sofowora, E.A. (1980). Preliminary screening of some plant extracts for molluscicidal activity, *Planta med.*, 39, 57-65.
20. Parsons, J.A. (1965). A digitalis-like toxin in the monarch butterfly, *Danaus plexippus* L. *J. Physiol., Lond.*, 178, 290-304.
21. Reichstein, T. (1967). Cardenolide (herzwirksame Glykoside) als Abwehrstoffe bei Insekten, *Naturw. Rdsch., Stuttg.*, 20, 499-511.
22. Reichstein, T., Von Eeuw, J., Parsons, J.A., Rothschild, M. (1968). Heart poisons in the monarch butterfly, *Science, N.Y.*, 161, 861-866.
23. Brower, L.P. (1969). Ecological chemistry, *Scient. Am.*, 220(2), 22-29.
24. Brower, L.P. & Glazier, S.C. (1975). Localization of heart poisons in the monarch butterfly, *Science, N.Y.*, 188, 19-25.

25. Von Euw, J., Fishelson, L., Parsons, J.A., Reichstein, T., Rothschild, M. (1967). Cardenolides (heart poisons) in a grasshopper feeding on milkweeds, *Nature, Lond.*, 214, 35-39.
26. Abisch, E. & Reichstein, T. (1962). Orientierende chemische Untersuchung einiger Asclepiadaceen und Periplocaceen, *Helv. chim. Acta*, 45, 2090-2116.
27. Gerritsma-van der Vijver, L.M., Botha, S., Kruger, A.M.C. (1985). Die primêre evaluering van plante met betrekking tot chemiese samestelling en aktiwiteit in ander biologiese sisteme, *S.A. Tydskr. vir Nat. en Tegn.* (In druk).
28. Van der Vijver, L.M. & Lötter, A.P. (1971). The constituents in the roots of *Plumbago auriculata* Lam. and *Plumbago zeylanica* L. responsible for antibacterial activity, *Planta med.*, 20, 8-13.
29. Weimarck, G. & Nilsson, E. (1980). Phototoxicity in *Heracleum sphondylium*, *Planta med.*, 38, 97-111.
30. Malone, M.H. & Robichaud, R.C. (1962). A hippocratic screen for pure or crude drug materials, *Lloydia*, 25, 320-332.
31. Malone, M.H., Tyler, V.E., Brady, L.R. (1967). Hippocratic screening of sixty-six species of higher fungi, *Lloydia*, 30, 250-257.
32. Goodman, L.S. & Gilman, A. (1958). *The pharmacologic basis of therapeutics*. 2nd ed. (Macmillan, New York) pp. 668-690.