Über die Tomatinbildung in Tomatenkeimlingen

2. Mitt.: Isolierung von Neotigogenin aus etiolierten Keimlingen

Von HENRICH SANDER

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg/Lahn
(Z. Naturforsch. **16 b**, 144 [1961]; eingeg. am 23. November 1960)

Es ist bereits berichtet worden¹, daß neben basischen Steroiden in etiolierten Tomatenkeimlingen neutrale Steroide in größerer Menge als Saponine auftreten. Der folgende Versuch hatte das Ziel, die Hauptkomponente des Sapogeningemisches zu isolieren. Aus 1500 g im Dunkeln ohne Nährstoffzugabe 14 Tage angekeimten Tomatensamen wurden 400 mg eines Sapogenins erhalten, das im Dünnschicht-Chromatogramm einheitlich war ($R_f=0,54$) und sich mit Vanillin/Phosphorsäure² zitronengelb färbte. Es erwies sich als Neotigogenin: Schmp. 200–202°, $[\alpha]_{22}^D -67^\circ$ (Chloroform). Sein Acetylderivat schmolz bei 177–179° und zeigte im Mischschmelzpunkt mit authentischem Neotigogeninacetat³ keine Depression $[[\alpha]_{22}^D -75^\circ$ (Chloroform)]. Außerdem stimmten die IR-Spektren beider Substanzen überein. Das Verhältnis Neotigogenin zu basischen Steroid-Aglyka (hauptsächlich Tomatidin) betrug im vorliegenden Falle 1 : 3. Neben Neotigogenin kamen andere Sapogenine nur in solchen Spuren vor, daß sie bisher nicht identifiziert werden konnten.

Die Überführung von Tomatidin in Neotigogenin in vitro beschrieben SATO und Mitarbb.⁴, und SCHREIBER⁵ gelang es, aus 50 g Rohmatidin, das aus Blättern von *Lycopersicon pimpinellifolium* gewonnen war, 15 mg Neotigogenin zu isolieren. Das Auftreten größerer Mengen dieses dem Tomatidin sterisch gleichen Sapogenins bei der Tomatinbildung in Tomatenkeimlingen unter Lichtabschluß gestattet Rückschlüsse auf die stereochemische Spezifität des sie anscheinend nebeneinander bildenden Enzymsystems. Dieser Befund läßt sich für die basischen Solanum-Steroide verallgemeinern. Solasodin kommt zusammen mit Diosgenin vor^{5,6}, Solanidin mit Δ^5 -Tomatidenol und Yamogenin⁵ und Soladulcin mit Tigogenin wie wir in bisher unveröffentlichten Versuchen zeigen konnten. Tigogenin wurde aus *Solanum dulcamara* erstmals von MARKER und Mitarbb.⁷ isoliert. Auf biogenetische Zusammenhänge zwischen basischen und neutralen Steroidsapogeninen haben bereits TSCHESCHE und KORTE hingewiesen⁸. Bis-

her haben wir die freien Aglyka in der Pflanze nicht nachweisen können.

Versuche

Isolierung von Neotigogenin

Frische, 14 Tage im Dunkeln angekeimte Pflänzchen aus 1500 g Samen wurden mit insgesamt 12 l 2-proz. Essigsäure 3-mal ausgekocht, die vereinigten Filtrate mit Ammoniak versetzt und das Filtrat der Ammoniakfällung 4-mal mit Butanol ausgeschüttelt. Der in Methanol aufgenommene Rückstand der im Vakuum zur Trockene gebrachten Butanollösungen betrug nach Fällung mit Äther 11,0 g (Rohsaponin). Dieses Rohsaponin wurde in 100 ml 1-n. methanolischer HCl 4 Stdn. hydrolysiert, neutralisiert und der Ansatz 3-mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Abdunsten des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Benzol aufgenommen und die filtrierte Lösung an Aluminiumoxyd-neutral WOELM Akt. St. I chromatographiert. Elution mit Äther + 10% Äthanol gab ein fast farbloses Kristallisat (Ausbeute: 400 mg), das noch mehrfach aus Aceton umgelöst wurde. Im Dünnschicht-Chromatogramm⁹ (Laufmittel: Essigsäureäthylester/Cyclohexan = 1 : 1, Steighöhe: 10 cm, Testsubstanz: Sudanrot G $R_f=0,65$) war es einheitlich und hatte einen R_f -Wert von 0,54.

Acetylierung von Neotigogenin

176,0 mg Neotigogenin wurden in 4 ml Pyridin gelöst, mit 1 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 24 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde in 50 ml kaltes Wasser gegossen, einige Tropfen Ammoniak hinzugefügt und nach 5 Stdn. abgesaugt (Ausbeute: 174,7 mg = 90% der Theorie). Die Substanz wurde in Äther gelöst und unter Zusatz von Methanol der Kristallisation überlassen. Schließlich wurden aus Aceton Prismen erhalten, die im Dünnschicht-Chromatogramm (Laufmittel: Essigsäureäthylester/Cyclohexan = 3 : 7, Steighöhe: 10 cm, Testsubstanz: Sudanrot G R_f 0,39) nur einen Flecken bildeten ($R_f=0,64$, authentisches Neotigogeninacetat 0,64, Neotigogenin 0,27). Die Aufnahmen der IR-Spektren dieser Substanzen erfolgten im Beckman-Spektrophotometer Modell IR 4 (3,5 mg/1 g KBr).

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für ihre Unterstützung und Frau H. Hesse, Chemisches Institut der Universität Marburg für die Aufnahmen der IR-Spektren.

¹ H. SANDER, H. HAUSER u. R. HÄNSEL, *Planta med.*, im Druck.

² W. J. McALEER u. M. A. KOZLOWSKI, *Arch. Biochem. Biophysics* **66**, 120 [1957].

³ Herrn Dr. Y. SATO, National Institut of Health, Bethesda danke ich vielmals für die Überlassung einer Probe von Neotigogeninacetat.

⁴ Y. SATO, H. G. LATHAM, L. H. BRIGGS u. R. N. SEELYE, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 6089 [1957].

⁵ K. SCHREIBER, *Abh. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Math. allg. Naturwiss.* **1957**, 143.

⁶ Y. SATO u. H. G. LATHAM, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 6067 [1953].

⁷ R. E. MARKER, R. B. WAGNER, P. R. ULSHAFFER, E. L. WITTBECKER, D. P. J. GOLDSMITH u. C. H. RUOF, *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 1199 [1943]; vgl. auch K. SCHREIBER u. H. RÖNSCH, Vortrag Arbeitstagung Biochem. Physiol. Alkaloide, Halle, Mai 1960.

⁸ R. TSCHESCHE u. F. KORTE, *Angew. Chem.* **64**, 633 [1952].

⁹ M. BARBIER, H. JÄGER, H. TOBIAS u. E. WYSS, *Helv. chim. Acta* **42**, 2440 [1959].