

CHROM. 3872

DÜNNSCICHT-CHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG VON
TOMATIDENOL, SOLASODIN UND SOLADULCIDIN
BZW. YAMOGENIN, DIOSGENIN UND TIGOGENIN

K.-E. ROZUMEK

*Institut für Pharmakognosie und Analytische Phytochemie der Universität des Saarlandes,
Saarbrücken (Deutschland)*

(Eingegangen am 15. November 1968)

SUMMARY

The separation of tomatidenol, solasodine and soladulcidine and yamogenin, diosgenin and tigogenin by thin-layer chromatography

A description is given of the separation of tomatidenol, solasodine and soladulcidine and yamogenin, diosgenin and tigogenin by thin-layer chromatography. Use was made of silver nitrate impregnated Silica Gel G.

EINLEITUNG

Bei der Untersuchung von *Solanum dulcamara*-Proben verschiedener Herkunft wurden drei chemische Rassen gefunden. Die Steroidalkaloide Tomatidenol, Solasodin und Soladulcidin sind für die einzelnen Rassen kennzeichnend. Auch sind Mischformen bekannt; diese enthalten mindestens zwei der genannten Alkaloide in etwa gleicher Konzentration^{1,2}.

Die Untersuchung des Pflanzenmaterials erfolgt meistens durch Analyse der Glycoalkaloide³⁻⁵. Auch die Auftrennung der Alkaloide selbst kann als Nachweismöglichkeit herangezogen werden⁶⁻⁸. Eine gleichzeitige DC Auftrennung von Tomatidenol, Solasodin und Soladulcidin ist bis jetzt noch nicht beschrieben worden. Das Ziel dieser Arbeit war daher, nach Möglichkeiten zu suchen, die eine gleichzeitige, eindeutige DC Auftrennung der genannten Alkaloide erlauben. Der Vorteil, den eine solche DC Trennung der drei wichtigsten *Solanum dulcamara*-Steroidalkaloide bei der Aufarbeitung eines grossen Untersuchungsmaterials mit sich bringt, ist eindeutig.

Die *Solanum dulcamara*-Alkaloide werden von den entsprechenden neutralen Steroidsapogeninen Yamogenin, Diosgenin und Tigogenin begleitet^{1,9-11}. Diese wurden daher in die Untersuchungen einbezogen. Über die Trennung dieser Verbindungen wurde ebenfalls schon gearbeitet^{7,8,10-12}, jedoch eine gleichzeitige DC Auftrennung ist nicht beschrieben.

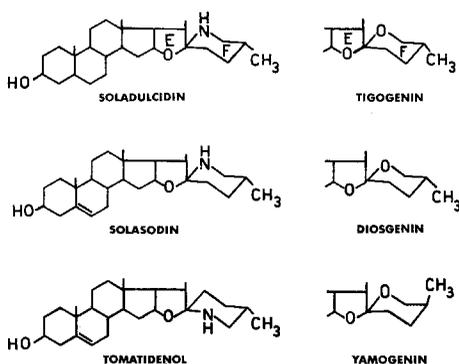


Fig. 1. Strukturformel der untersuchten Steroidalkaloide und Steroidsapogenine.

EXPERIMENTELLER TEIL (soweit nicht aus den Legenden der Fig. 2–5 ersichtlich)

Die uniformen wie die Gradient-Schichten wurden mit dem von STAHL entwickelten Streicher hergestellt (vgl. E. STAHL, in E. STAHL (Herausgeber), *Handbuch der Dünnschicht-Chromatographie*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin und Academic Press, New York, 1966, S. 92ff). Schicht: Kieselgel G (Merck) ohne und mit Zusatz von AgNO_3 ; Suspension: 45 g Kieselgel G in 94 ml aqua dest. bzw. AgNO_3 -Lösung; Schichtdicke: 375 μm ; Laufstrecke (in normaler Trogkammer): 15 cm; Temperatur: $22 \pm 2^\circ$; rel. Feuchte: 40% \pm 5%; Sprühreagenz: Anisaldehyd-Schwefelsäure mit Phosphormolybdänsäurezusatz (0,5 ml Anisaldehyd, 10 ml Eisessig, 85 ml Methanol, 5 ml konz. Schwefelsäure, 20 g Phosphormolybdänsäure); Erhitzung der besprühten Platten: 110° , 5–10 min.

ERGEBNISSE

Trennung der Steroidalkaloide

Tomatidenol, Solasodin und Soladulcidin (Fig. 1) lassen sich durch DC in normalen Trogkammern unter Kammerättigung auf AgNO_3 -haltigen uniformen Kieselgel G-Schichten (Fig. 2, rechte Bildhälfte) wie "im Gradient" von AgNO_3 -haltigem Kieselgel G nach AgNO_3 -freier Schicht (Fig. 2, Bildmitte) recht gut trennen. Hierbei ist der Chromatographie "im Gradient" von AgNO_3 -haltiger nach AgNO_3 -freier Schicht der Vorzug zu geben: Die Substanzflecken sind schärfer umrissen und laufen nicht ineinander. Auf uniformen Schichten tritt oft eine Schwänzung der Substanzflecken auf. Aus der Fig. 2 ist dies deutlich zu erkennen. Die Chromatographie "im Gradient" von AgNO_3 -freiem nach AgNO_3 -haltigem Kieselgel (Fig. 2, linke Bildhälfte) bringt dagegen keine Vorteile. Solasodin und Soladulcidin werden nicht getrennt.

Die Durchlauf-Entwicklung in der BN-Kammer (Fig. 3) bringt im Vergleich zur Dreifach-Entwicklung (Fig. 2, Mitte) noch bessere Trennleistungen. Die Flecken sind jedoch diffuser, die Nachweisgrenze liegt infolgedessen etwas höher.

Mit Hilfe der T-Gradient-Technik (Chromatographie "quer zum Gradient") wurde der optimale AgNO_3 -Gehalt der Schichten für Trennungen in normalen Trogkammern und in der BN-Kammer ermittelt. Optimale Trennleistungen werden in

beiden Kammern bei AgNO_3 -Gehalten zwischen 4.2 und 6.3 % (bezogen auf Kieselgel) erreicht. Höhere AgNO_3 -Gehalte wirken sich nachteilig aus: die Trennleistung geht zurück. Das erste Anzeichen einer Trennung von Solasodin und Soladulcidin ist bei AgNO_3 -Gehalten von etwa 2.1 % erkennbar. Dagegen sind Tomatidenol und Solasodin bzw. Tomatidenol und Soladulcidin bereits auf AgNO_3 -freier Schicht getrennt.

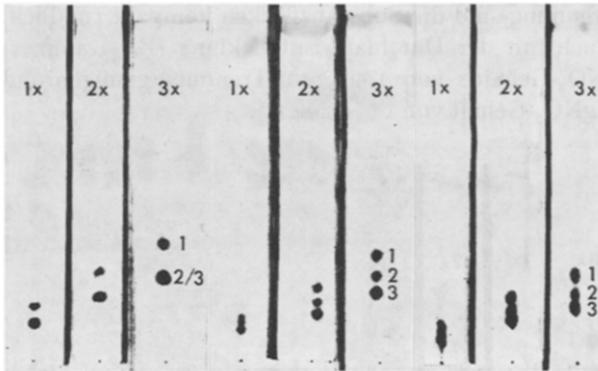


Fig. 2. Trennung der Steroidalkaloide Tomatidenol (1), Soladulcidin (2) und Solasodin (3) in normaler Trogkammer bei Kammersättigung durch Einfach- (1x), Zweifach- (2x) und Dreifach-Entwicklung (3x). Linke Bildhälfte: Chromatographie im AgNO_3 -Gradient von AgNO_3 -freiem nach AgNO_3 -haltigem Kieselgel G (AgNO_3 -Gehalt maximal 6.3 %); Bildmitte: Chromatographie im AgNO_3 -Gradient von AgNO_3 -haltigem (AgNO_3 -Gehalt maximal 6.3 %) nach AgNO_3 -freiem Kieselgel G; rechte Bildhälfte: Uniforme AgNO_3 -haltige Kieselgel G-Schicht (AgNO_3 -Gehalt 6.3 %); Fließmittel: Dichlormethan-Methanol (95 + 5); R_F -Richtwerte bei Dreifach-Entwicklung (im Gradient von AgNO_3 -haltiger nach AgNO_3 -freier Schicht): Tomatidenol 31, Soladulcidin 25, Solasodin 21.

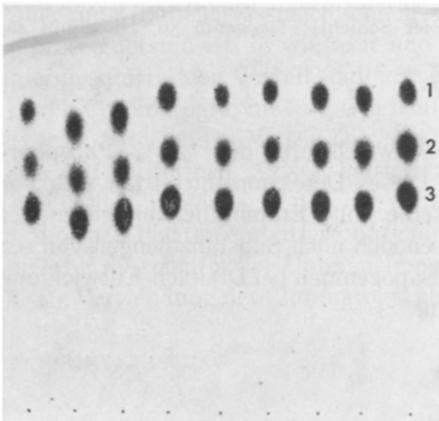


Fig. 3. Durchlauf-Entwicklung der Steroidalkaloide Tomatidenol (1), Soladulcidin (2) und Solasodin (3) in der BN-Kammer. Schicht: uniforme AgNO_3 -imprägnierte Kieselgel G-Schicht (AgNO_3 -Gehalt 6.3 %); Fließmittel: Dichlormethan-Methanol (95 + 5); Laufzeit: 125 min. R_F -Richtwerte: Tomatidenol 84, Soladulcidin 70, Solasodin 55.

Trennung der Steroidsapogenine

Die Sapogenine Yamogenin, Diosgenin und Tigogenin (Fig. 1)* lassen sich ebenfalls auf mit AgNO_3 imprägnierten Kieselgel G-Schichten in normalen Trogkammern bei Dreifach-Entwicklung und in BN-Kammern gut trennen. Für die Chromatographie der neutralen Steroide in Trogkammern (Dreifach-Entwicklung) lassen sich die gleichen Betrachtungen anstellen wie bei der Trennung der Steroidalkaloide unter gleichen Bedingungen. Es hat sich auch hier die Entwicklung "im Gradienten" von AgNO_3 -haltiger nach AgNO_3 -freier Schicht als vorteilhaft erwiesen (Fig. 4, Bildmitte): Bei guter Trennung sind die Substanzflecken kompakt rundlich. Gute Trennungen lassen sich auch mit der Durchlauf-Entwicklung (BN-Kammer) erzielen. Fig. 5 zeigt, dass AgNO_3 -Gehalte von 1.5 % zur Trennung genügen und eine Trennung schon bei einem AgNO_3 -Gehalt von 1 % erfolgt.

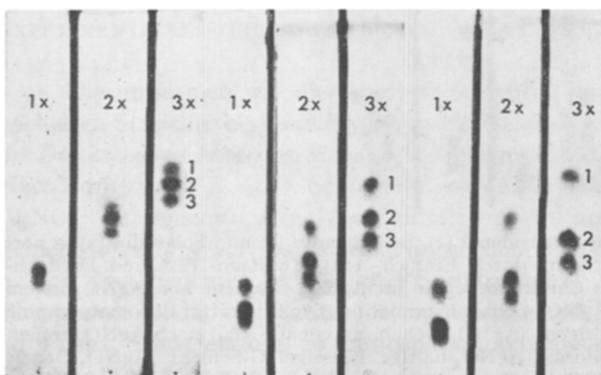


Fig. 4. Trennung der Steroidsapogenine Tigogenin (1), Diosgenin (2) und Yamogenin (3) in normaler Trogkammer bei Kammersättigung durch Einfach- (1x), Zweifach- (2x) und Dreifach-Entwicklung (3x). Linke Bildhälfte: Chromatographie im AgNO_3 -Gradient nach AgNO_3 -haltigem Kieselgel G (AgNO_3 -Gehalt maximal 2.1 %); Bildmitte: Chromatographie im AgNO_3 -Gradient von AgNO_3 -haltigem (AgNO_3 -Gehalt maximal 2.1 %) nach AgNO_3 -freiem Kieselgel G; rechte Bildhälfte: uniforme AgNO_3 -haltige Kieselgel G-Schicht (AgNO_3 -Gehalt 2.1 %); Fließmittel: Dichlormethan-Aceton (97 + 3); R_F -Richtwerte bei Dreifach-Entwicklung (im Gradienten von AgNO_3 -haltiger nach AgNO_3 -freier Schicht): Tigogenin 56, Diosgenin 46, Yamogenin 39.

Sprühreagenz

Als Sprühreagenz wurde Anisaldehyd-Schwefelsäure, dem 20 % Phosphormolybdänsäure zugesetzt waren, verwendet. Dieses Detektionsmittel hat sich vor allem bei AgNO_3 -haltigen Schichten durch seine hohe Empfindlichkeit gegenüber anderen Nachweisreagentien bewährt: Es lassen sich noch Substanzmengen von 0.2 μg an Steroidalkaloiden bzw. 0.3 μg an Steroidsapogeninen bei Dreifach-Entwicklung und 0.6 μg bei Durchlauf-Entwicklung erfassen.

DISKUSSION

Die Steroidalkaloide Tomatidenol, Solasodin und Soladulcidin und die entsprechenden Steroidsapogenine Yamogenin, Diosgenin und Tigogenin lassen sich

* Der Fa. Merck AG., Darmstadt (Herrn Dr. W. KÜSSNER), danke ich für die Überlassung der neutralen Sapogenine.

ohne Schwierigkeiten auf mit AgNO_3 imprägnierten Kieselgel G-Schichten trennen. Als Fließmittelhauptkomponente hat sich Dichlormethan als am geeignetsten erwiesen. Es übertrifft in seiner Trennleistung das Chloroform. Für die Basen hat sich das Fließmittel Dichlormethan–Methanol (95 + 5) und für die neutralen Sapogenine Dichlormethan–Aceton (97 + 3; 98 + 2) bewährt. Schon geringfügige Veränderungen im Methanol- bzw. Acetonanteil des Fließmittels verhindern eine gleichzeitige Auftrennung der drei jeweils untersuchten Verbindungen.

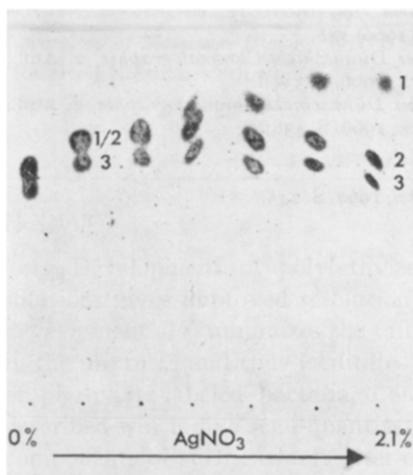


Fig. 5. Durchlauf-Chromatogramm der Steroidsapogenine Tigogenin (1), Diosgenin (2) und Yamogenin (3) in der BN-Kammer unter Anwendung der T-Gradient-Technik; Fließmittel: Dichlormethan–Aceton (98 + 2); Laufzeit 150 min.

Mit Hilfe der von STAHL entwickelten T-Gradient-Technik (Chromatographie quer zum Gradient) lässt sich schnell entscheiden, welche Sorptionsmittelkombination am geeignetsten ist, in wie weit und in welcher Konzentration bestimmte Imprägnierungsmittel von Vorteil sind^{15–20}. In der vorliegenden Arbeit wurde nun versucht, durch Chromatographie "im Gradienten" selbst bessere Trennleistungen zu erhalten (Fig. 2, Mitte und 4, Mitte). Die hR_F -Werte dieser Trennungen sind etwa die gleichen wie auf uniformen AgNO_3 -haltigen Schichten. Die Substanzflecken sind jedoch kompakter und daher deutlicher voneinander getrennt. Eine "Schwängung", die auf uniformen Platten eintritt, konnte nicht beobachtet werden. Es ist zu erwarten, dass sich bei systematischer Untersuchung weitere Anwendungsbeispiele für eine vorteilhafte Verwendung der Chromatographie "im Gradienten" finden lassen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Trennung von Tomatidenol, Solasodin und Soladulcidin wie von Yamogenin, Diosgenin und Tigogenin auf silbernitrat-haltigen Kieselgel G-Schichten beschrieben. Ferner wird der Vorteil einer Chromatographie "im Gradienten" bei der Auftrennung chemisch recht einheitlicher Verbindungen aufgezeigt.

LITERATUR

- 1 H. SANDER, *Planta Med.*, 11 (1963) 303.
- 2 K.-E. ROZUMEK UND H. SANDER, *Arch. Pharm.*, 300 (1967) 316.
- 3 P. M. BOLL, *Acta Chem. Scand.*, 16 (1962) 1819.
- 4 E. G. C. CLARKE, *Nature*, 181 (1958) 1152.
- 5 H. SANDER, M. ALKEMEYER UND R. HÄNSEL, *Pharm. Acta Helv.*, 35 (1960) 30.
- 6 H. SANDER UND G. WILLUHN, *Flora*, 151 (1961) 150.
- 7 K. SCHREIBER, O. AURICH UND G. OSSKE, *J. Chromatog.*, 12 (1963) 63.
- 8 H. RÖNSCH UND K. SCHREIBER, *J. Chromatog.*, 30 (1967) 149.
- 9 H. SANDER, *Botan. Jahrb.*, 82 (1963) 404.
- 10 K. SCHREIBER UND H. RÖNSCH, *Arch. Pharm.*, 298 (1965) 285.
- 11 D. VÁGUJFALVI, GY. HELD UND P. TÉTÉNYI, *Arch. Pharm.*, 299 (1966) 812.
- 12 R. D. BENNETT UND E. HEFTMANN, *J. Chromatog.*, 21 (1966) 488.
- 13 R. NEHER, in E. STAHL (Herausgeber), *Handbuch der Dünnschicht-Chromatographie*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin und Academic Press, New York, 1966, S. 334ff.
- 14 F. ŠANTAVÝ, in E. STAHL (Herausgeber), *Handbuch der Dünnschicht-Chromatographie*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin und Academic Press, New York, 1966, S. 438ff.
- 15 E. STAHL, *Chem.-Ing.-Tech.*, 36 (1964) 941.
- 16 E. STAHL, *Angew. Chem. Intern. Ed.*, 3 (1964) 784.
- 17 P. J. SCHORN, *Chromatographie Symposium, III, Brüssel, 1964*, S. 245.
- 18 E. STAHL UND H. VOLLMANN, *Talanta*, 12 (1965) 525.
- 19 E. STAHL, *Z. Anal. Chem.*, 221 (1966) 3.

J. Chromatog., 40 (1969) 97-102